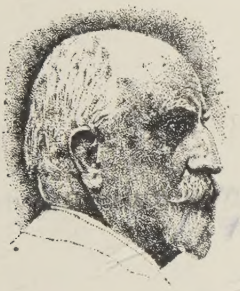
VOLUMEN 6 ENERO-MARZO 1953 NUM. 1

Microbiología Española

publicada por
el Instituto "Jaime Ferrán" de Microbiología
y la Sociedad de Microbiólogos Españoles



CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS
MADRID

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE
28 MAR 1956

SUMARIO

Página

CONFERENCIAS Y COMUNICACIONES

Una década de antibióticos en América, por **Kennet B. Raper** 3

Empleo de los medios sintéticos de Wickerham en los estudios sobre nutrición de los microorganismos, por **Juan Santa María Ledochowski** 39

INFORMACION

Actas de la Sociedad 81

BIBLIOGRAFIA

LUIS E. NAJERA: **Nomenclátor de las enfermedades transmisibles y simili-transmisibles** 83

HANS VOGEL: **Mikrobiologie im Reagenzglas** 85

Directory of collections and list of species maintained in New Zealand 85

Indice de artículos de revistas 86

SE SUPLICA EL CAMBIO
ON PRIE L'ECHANGE
AUSTAUSCH ERBETEN
EXCHANGE DESIRED

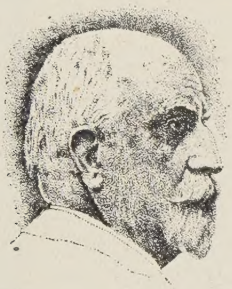
TODA LA CORRESPONDENCIA
DEBE DIRIGIRSE A
MICROBIOLOGIA ESPAÑOLA
SERRANO, 113 ó 152 - MADRID - (ESPAÑA)

Número suelto: 22 pesetas. Suscripción anual (4 números): 80 pesetas.

VOLUMEN 6 ENERO-MARZO 1953 NUM. 1

Microbiología Española

Publicada por
el Instituto "Jaime Ferrán" de Microbiología
y la Sociedad de Microbiólogos Españoles



CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS
MADRID

CONSEJO DE REDACCION

Prof. Dr. don Arnaldo Socías Amorós, Director del Instituto "Jaime Ferrán" de Microbiología, del C. S. I. C.

Prof. Dr. don Lorenzo Vilas López, Secretario de la Sociedad de Microbiólogos Españoles.

Dr. don Ricardo Salaya León, Bibliotecario de la Sociedad de Microbiólogos Españoles.

GRAFICAS TEJARIO, S. A. Plaza del Biombo, 4. Teléfono 22 12 88. MADRID

UNA DECADA DE ANTIBIOTICOS EN AMERICA (*)

por

Kenneth B. Raper.

INTRODUCCION

Kenneth B. Raper

En el verano de 1941, el Prof. H. W. Florey y el Dr. N. C. Heatley, de la Universidad de Oxford, trajeron a América el problema de producir penicilina, poniendo en movimiento, en consecuencia, una extraordinaria cadena de acontecimientos. Desde entonces, un gran interés se ha desarrollado en torno a todos los grupos de microorganismos y a los productos de su metabolismo. Una industria de antibióticos por valor de muchos millones de dólares, y que emplea a miles de personas, ha surgido, mientras la práctica médica ha sido profundamente influída, y curaciones antes imposibles son ahora aceptadas como cosa corriente, salvándose un número elevado de vidas humanas. Aunque todas estas cosas son hoy bien conocidas por la mayoría de la gente, sin embargo, encuentro apropiado, cumplidos los diez años de la fecha citada, el volver sobre algunos descubrimientos y progresos más importantes alcanzados en esta «Década de antibióticos».

(*) Traducción abreviada de Miguel Rubio.

Aparte de la importancia de los avances logrados desde 1941, el conocimiento de los antagonismos microbianos por el hombre alcanza mucho más atrás. Hay un comparativamente rico folklore de muchas naciones sugiriendo el empleo del pan enmohecido y productos similares para combatir infecciones superficiales.

Desde el tiempo de Pasteur no son raras las publicaciones científicas donde se habla de un microorganismo benigno que inhibe o destruye otro altamente infeccioso, destacando entre tales referencias las relativas a las propiedades y uso de la piocinasa, popularizada por Emmerich y Low (1899 y sig.). Estos trabajos y publicaciones ante-penicilina han sido cuidadosamente revisados por el Profesor Florey en el primer capítulo del monumental trabajo sobre antibióticos llevado a cabo por su equipo de Oxford en 1949.

PENICILINA

El interés sobre antagonismos microbianos parece ser que subsistió durante los años 1920 y siguientes, pero nada parece indicar que Fleming fuera influído apreciablemente por este temprano trabajo. Así, en realidad, la Edad moderna de los Antibióticos se puede decir data del descubrimiento de la penicilina en 1928, la cual fué anunciada el siguiente año en un trabajo que comenzaba con este párrafo, ahora famoso:

«Estando trabajando con variantes de estafilococos, un cierto número de placas de cultivo fueron apartadas sobre la mesa del laboratorio y examinadas de tiempo en tiempo. Durante los exámenes estas placas fueron necesariamente expuestas al aire, y llegaron a contaminarse con varios microorganismos. Nos pudimos dar cuenta de que alrededor de una gran colonia de un hongo contaminante las colonias de estafilococos se hacían transparentes y estaban lisándose claramente».

El resto de esta historia, frecuentemente vuelta a contar, es familiar a todos. Peor conocido es el hecho de que se prestó poca atención y estudio a la penicilina durante la siguiente década, aunque Fleming había establecido el espectro microbiano de la misma con sorprendente exactitud y había llamado la atención acerca de su potencial importancia terapéutica. Respecto a este último punto, decía Fleming:

«La penicilina, con respecto a infecciones con microbios sensitivos, parece tener algunas ventajas sobre los antisépticos químicos bien conocidos. Una bue-

na muestra inhibirá completamente estafilococos, estreptococos, piogenes y neumococos en una dilución de 1 en 800..., lo cual es más de lo que se puede decir de los antisépticos químicos en uso. Experimentos en relación con su valor en el tratamiento de infecciones piógenas están en curso».

El Profesor Raistrick y colaboradores (Cluttebuck y col., 1932) confirmaron posteriormente las propiedades antibacterianas de la penicilina de Fleming, y además obtuvieron los primeros datos de su inestabilidad química en soluciones ácidas y alcalinas. Mirando hacia atrás, es interesante pensar sobre cómo se habría desarrollado nuestra historia si él hubiera conseguido interesar a sus amigos médicos en probar la penicilina y ver si se podía producir una cantidad adecuada. En Estados Unidos, Roger Reid (1933 y sig.) obtuvieron los resultados ya conocidos. Bornstein (1940) usó la penicilina (filtrados de cultivo) como una ayuda para aislar enterococos y estreptococos. Esto es todo, y, como Coghill ha señalado (1944), la penicilina estuvo a punto de morir de muerte natural.

Aunque la década de antibióticos, la cual no discutiré ahora, comienza cronológicamente en 1941, el desarrollo actual empezó dos años antes en la escuela de Patología William Dumm, de la Universidad de Oxford, cuando Florey, E. Chain y Heattley emprendieron una investigación sobre las substancias antibacterianas producidas por microorganismos. La penicilina y el hongo de Fleming, entonces correctamente identificado por Thom como Penicillium notatum Westring, captaron la atención desde el principio. Se obtuvo una cantidad limitada de la substancia activa y también información adicional sobre las características químicas, y, lo más importante de todo, se realizaron algunas pruebas in vivo en ratones infectados con resultados singularmente favorables. Una breve información (Chain y col.) apareció en «The Lancet» en agosto de 1940. En el año siguiente, un artículo más largo y significativo (Abraham y col.) se publicó en la misma revista. Fueron descritos métodos para producir penicilina en vasijas de barro, en escala comparativamente grande; fué introducida la técnica de ensayo de cilindro en placa y definida la unidad de penicilina y se prestó atención al efecto de la penicilina sobre las bacterias y las células animales; además, se realizaron experimentos con animales y se hicieron los primeros tratamientos clínicos, con resultados asombrosamente prometedores. El Profesor Florey (1949, capítulo XV) ha escrito un relato completo de estos primeros ensayos.

Debido a la seria situación de guerra en Inglaterra durante el verano de 1941, no era aconsejable el intentar allí la producción de la penicilina adi-

cional necesaria para extensos tratamientos clínicos. Por esta razón, y ayudados por la Fundación Rockefeller, Florey y Heatley marcharon a los Estados Unidos, donde se pusieron en contacto con la Academia Nacional de Ciencia y el Dr. Charles Thom, Jefe microbiólogo en el Departamento de Agricultura, de Washingtom. Se les aconsejó el ir al Laboratorio «Northern Regional Research», en Peoria, donde en la División de fermentaciones había un personal especializado en fermentaciones por hongos y una gran colección de hongos. El Doctor O. E. May, Director del laboratorio, y el Dr. R. D. Coghill, Jefe de la División de fermentaciones, se dieron cuenta del valor de la droga, empezándose a trabajar inmediatamente en el problema. Así fué iniciada en América la gran corriente de investigaciones en antibióticos.

Antes de seguir más adelante, conozcamos algunos acentecimientos importantes que tenían lugar en otros campos y en otros laboratorios. En California, Richard Weinling había mostrado (1934) que el hongo del suelo, *Gliocladium Fimbriatum*, produce una substancia, gliotoxina, capaz de destruir las hifas de *Rizotonia solani* y otros hongos. Das años más tarde, en colaboración con O. H. Emerson, aisló la substancia en forma cristalina, llegando a ser así el primero que obtuvo en estado puro una substancia con propiedades antibióticas. En el Instituto Rockefeller, René Dubos (1939 y sig.), había demostrado que un bacilo común del suelo, identificado como *P. brevis*, era capaz de producir un agente bactericida altamente activo contra ciertos tipos virulentos de neumococo. Con la colaboración de Hotchkiss y otros había mostrado que este agente, llamado tirotricina, consistía en dos principios activos, gramicidina y tirocidina, y sugirió que la primera podía encontrar aplicación en el tratamiento de infecciones causadas por cocos Gram-positivos. En la Universidad de Rutgers, el Profesor Waksman estuvo investigando activamente los efectos antagónicos de varios microorganismos del suelo, investigaciones que culminaron tres años más tarde en el descubrimiento de la estreptomicina. Mientras no se había hecho virtualmente nada con el moho de Fleming en América; muchos investigadores, interesados por los artículos publicados por los laboratorios antes citados, se dieron cuenta de las posibilidades de investigación en el campo del antagonismo microbiano. Un campo propicio esperaba a Florey y Heatley cuando llegaron a este país.

En el laboratorio de Peoria se decidió que el problema de la penicilina podía ser investigado desde tres diferentes ángulos. Primero, debíamos intentar el mejoramiento de los rendimientos de penicilina estudiando la nutrición del hongo en cultivos de superficie del tipo empleado entonces en Inglaterra.

Segundo, deberíamos desarrollar un método para producir el antibiótico en cultivos sumergidos. Tercero, debíamos investigar otros hongos, esperando encontrar una estirpe más productiva. Es un récord y un motivo de orgullo para todos nosotros el que fuésemos en aquel tiempo capaces de realizar todos estos objetivos.

Desde el principio nos dimos cuenta de que si la penicilina podía ser producida en cultivos sumergidos, esto representaría el mejor medio de obtener una producción en gran escala a un coste moderado. Por ejemplo, suponiendo una igualdad de rendimiento por centímetro cúbico para métodos de superficie y sumergidos se calculó que un tanque de 10.000 galones representaría el equivalente de 60 a 70.000 botellas de dos cuartos en capacidad de producción, y sería mucho más barato de operar. Al principio de 1944 una parte substancial de la producción en los EE. UU. se obtuvo de esta fuente, y al final de 1945 llegó a representar la cantidad total. El efecto inmediato de este descubrimiento fué el producir cantidades muchísimo mayores de penicilina, que de otra manera no hubiera sido posible producir. Otro efecto de más alcance fué el de evitar los estudios sobre cultivos en superficie cuando se desarrollaron otras fermentaciones, tales como estreptomicina, cloramfenicol, aureomicina y terramicina. Ahora, en la investigación de los antibióticos corrientes, hasta en las primeras pruebas (screening), se llevan a cabo cultivos sumergidos (con agitación).

Se prestó también mucha atención a la selección y mejora de la estirpe del hongo, y éxitos singulares coronaron tales esfuerzos a la largo de este propósito. Fleming, en su primer artículo, se refería a su moho como P e n i c i l l i u m r u b r u m Viourge. Raistrick lo envió a Thom, quien lo identificó como P . n o t a t u m Westling. La importancia de un diagnóstico corregido de Thom es obvia, y años más tarde dió lugar a una busca intensiva de más y mejores estirpes productoras de penicilina. El trabajo primitivo en América, como en Inglaterra, fué hecho con la estirpe original, y sin alterar, de Fleming. Se obtuvieron rendimientos de 75 a 100 u./c. c. en cultivos de superficie con el medio mejorado lactosa-caldo de maíz, en contraste con las 2 a 4 u./c. c. obtenida cuando empezaron los trabajos. De aislamientos de una sola espora y ensayos con las estirpes resultantes fué obtenida una subestirpe, NRRL 1249. B22, la cual producía rendimientos de 175 a 200 u./c. c.

Los intentos de mejora de producción por la selección de variantes naturales no tuvieron éxito. La misma técnica fué aplicada a la estirpe NRRl 832, pero ninguna de las variantes produjo penicilina en mayores cantidades que la estirpe madre. Entonces, la obtención fué dirigida hacia el aislamiento de nuevas

estirpes; por el trabajo ya hecho se había demostrado que casi todos los miembros del grupo P. notatum-chrysogenum producían penicilina. Parecía razonable esperar que si se examinasen suficiente número de nuevos aislamientos se podría encontrar una estirpe marcadamente superior. Los aislamientos fueron hechos de productos alimenticios mohosos, frutos y vegetales, y de una variedad de suelos de EE. UU. y de muchos países extranjeros.

El cultivo más importante descubierto fué aislado de un melón cantalú recogido en Peoria. Esta estirpe de P. Chrysogenum Thom fué designada NRRL 1951, y en los meses que siguieron fué objeto de un estudio intensivo que llevó a la obtención de estirpes más y más productivas, sobre las cuales fué basada toda la posterior manufactura de la droga.

NRRL 1951	P. chrysogenum aislado de un melón cantalú mohoso capaz de producir aproximadamente 100 u./c. c. de penicilina en cultivo sumergido.
NRRL 1951 B 25	Una variante natural del NRRL 1951, capaz de producir más de 250 u./c. c. de penicilina.
X-1612	Una mutación inducida por rayos X del NRRL 1951. B25, capaz de producir más de 500 c. c. de penicilina.
Wis. Q-176	Una mutación inducida con rayos ultravioleta del X-1612, capaz de producir más de 900 c. c. de penicilina.

Después de estas mejoras, los Profesores Backus y Stauffer (1946, y sig.) han hecho un estudio intensivo de la mutabilidad y variación de estirpes en el Wis. Q-176 y sus derivados. Por la aplicación otra vez de radiación ultravioleta y exposición a las mostazas nitrogenadas, combinada con una selección cuidadosa, han logrado aislar una serie de estirpes sin pigmento, de alto rendimiento, culminado en la estirpe Wis. 49-2105, la cual es capaz de producir 1.500 c. c. en frascos sacudidos y en recipientes de 30 litros con agitación.

Del trabajo en nuestros laboratorios y en Wisconsin sobresalen ciertos puntos significativos. Primero: los mohos, perteneciendo a las series del P. notatum-chrysogenum, se caracterizan generalmente por una gran variabilidad natural. Segundo: respecto a la producción de penicilina, se puede esperar sólo una mejora limitada de tal variación. En todo caso, para cada estirpe parece existir un límite superior, más allá del cual este fenómeno no puede ser aprovechado; esto ha sido demostrado en la estirpe de Fleming, NRRL 832, NRRL 1951, y otras aisladas primeramente no citadas aquí (Raper y Alexander, 1945). Tercero: la variabilidad puede ser enormemente aumentada por la aplicación de estímulos mutagénicos, incluyendo mejoras marcadas en

la capacidad biosintética. Cuarto: los mútantes obtenidos por tales técnicas no representan clones uniformes, sino que continúan exhibiendo variabilidad dentro de los mismos.

La penicilina, tal como se produce en los cultivos de mohos, no representa un compuesto químico determinado, sino más bien una familia de compuestos muy similares, los cuales tienen una estructura lactanotiazolidina común en diferentes cadenas laterales o grupos R. Hoy la penicilina farmacéutica es enteramente penicilina G (más específicamente, benzil-penicilina). Esto ha sido dictado por ciertas circunstancias. La penicilina G fué la primera penicilina aislada en cantidad apreciable; posee características altamente convenientes desde el punto de vista de su purificación y aprovechamiento. La penicilina K, o heptil-penicilina, no constituye una droga conveniente, ya que no puede mantener en el cuerpo adecuados niveles sanguíneos. La penicilina X o p-hidroxibencil-penicilina, por otro lado, es bastante aceptable bajo cualquier punto de vista y contando por unidad básica es más efectiva contra los estreptococos, neumococos y gonococos que la penicilina G. Sin embargo, los rendimientos vienen a ser bajos y se han hecho sólo limitados intentos para incrementar su productividad (Raper y Fennell, 1946). La penicilina F o Δ^2 pentenil-penicilina, y dihidro-penicilina F o amil-penicilina, no han sido nunca obtenidas en cantidades suficientes para una valoración química. Las diferencias entre las actividades antibióticas de todas las penicilinas naturales es ampliamente cuantitativa más que cualitativa, y los organismos no sensibles para una son también insensibles para las otras.

Es interesante hacer notar que las estirpes X-1612 y Wis. Q-176 producen naturalmente una alta proporción de penicilina K; sin embargo, empleando agentes convenientes, tales como el ácido fenilacético en las soluciones nutritivas, se obtienen regularmente altos redimientos de penicilina G. Esta práctica ha sido empleada en la industria durante varios años.

Ordinariamente pensamos en la penicilina como un producto metabólico característico del P. notatum chrysogenum. Sin embargo, Florey y otros (1949) han registrado como productores de penicilina siete especies de Aspergillus y doce especies de Penicillium fuera de aquellas series. Peck y Hewicc (1945) indicaron la producción de un antibiótico parecido a la penicilina por un grupo de hongos enteramente diferentes, como el Trichophyton mentagrophytes. A la vista de estos descubrimientos, los micólogos han debido alterar radicalmente sus puntos de vista con respecto a la especificidad de productos metabólicos.

En el verano de 1951 la producción de penicilina en los Estados Unidos había alcanzado de 25 a 30 trillones de unidades por mes. El mayor factor contribuyente a este extraordinario desarrollo es, sin duda, la introducción de estirpes de mohos cada vez más productivas, mejora de la que pueden estar orgullosos todos los micólogos. Además, estas armas microbianas, mejoradas, están siendo usadas con una efectividad cada vez mayor al haber adquirido un mayor conocimiento los fermentólogos de cómo conducir las fermentaciones por mohos; esta experiencia ha sido reflejada en una mejor producción y mejora de los procesos técnicos. El desarrollo de estirpes no pigmentadas ha llevado a un uso más eficaz de los precursores y a economías en el aprovechamiento y multiplicación de la droga. Es particularmente de notar que la producción de penicilina en cultivos sumergidos permanece sólidamente asentada sobre los principios establecidos hace más de ocho años, y la solución básica nutritiva entonces recomendada se emplea todavía sin modificación substancial. Sin embargo, se ha aprendido mucho en este intervalo; se han mejorado los regímenes para el desarrollo de inóculos, se han hecho estudios críticos relativos a la aireación y agitación, y ha sido obtenido un cuadro razonable y completo de los cambios químicos que tienen lugar durante la fermentación. El trabajo primitivo fué hecho en nuestro laboratorio, a lo largo de estas líneas, y esto tuvo su paralelo en los laboratorios de investigación de aquellos fabricantes que emprendieron tempranamente la producción de penicilina en tanques profundos. Los Profesores W. Peterson, Marvin Johnson y colaboradores, de la Universidad de Wisconsin, han investigado todos los aspectos de esta fermentación, y la extensa serie de artículos salidos de su laboratorio constituye el reportaje documental más completo publicado sobre este tema.

Johnson, en su publicación titulada «Recent Advances in the Penicillin Fermentation» (1951), indica ciertos factores que contribuyen a altos rendimientos de penicilina: Se debe emplear una adecuada aireación efectiva; es importantísima la dispersión del aire por agitación vigorosa; deben ser obtenidos niveles adecuados, pero no tóxicos, de precursor durante la biosíntesis de penicilina, y esto se realiza mejor por un aporte intermitente. Ya que la penicilina farmacéutica es la G, el precursor preferido será el ácido fenilacético o algún derivado suyo. Un crecimiento adecuado del hongo es el primer requisito para la formación de penicilina, y la mejor manera de obtenerlo es a un pH ácido de 4,5-6 con elementos nutritivos fácilmente obtenibles, tales como iones, amonio y glucosa. Habiendo obtenido el micelio necesario, el pH se eleva a 7 o más, y se puede añadir un carbohidrato lentamente asimilable (p. ej., lactosa),

después de lo cual el crecimiento es mínimo y la formación de penicilina se efectúa a gran velocidad.

Después de diez años, la penicilina permanece aún como la droga menos tóxica de todos los medicamentos antibióticos. Durante recientes años su capacidad de aplicación ha sido extendida, pero su aplicación más sobresaliente ha sido su uso cada vez mayor como profiláctico para prevenir el desarrollo en infecciones que antes formaban una pesada carga con toda serie de intervenciones quirúrgicas, etc. Junto a esto, y debido a su baja toxicidad, ha habido una tendencia constante a incrementar las dosis empleadas en la mayor parte de las enfermedades. Quizá como resultado de esto último, las bacterias resistentes a la penicilina no se han desarrollado en gran escala, excepto en algunos hospitales, donde estafilococos o estreptococos viridans resistentes están empezando a constituir un problema.

La penicilina sigue siendo la droga de elección para combatir infecciones causadas por neumococos, incluyendo pulmonía, empiema y meningitis; estreptococos, incluyendo tipos hemolíticos y no hemolíticos, escarlatina y meningitis; estafilococos, incluyendo las bacteriemias e infecciones más localizadas; gonococo; ántrax; y las espiroquetas de la sífilis. En combinación con antisueros específicos se emplea en la difteria, gangrena gaseosa y tétanos. Su uso en la peritonitis ha sido sustituído en buena parte por antibióticos de más amplio espectro.

Las formas de dosificación han cambiado apreciablemente. En los primeros tiempos, la penicilina se administraba casi siempre por instilación intravenosa continua o por inyecciones intramusculares con intervalos de tres-cuatro horas, siendo la droga administrada generalmente como una solución acuosa de su sal sódica. En 1944, Romanski y Rittman encontraron que la absorción de la droga era mucho menos rápida cuando se incorporaba a una mezcla de aceite de cacahuet y cera de abejas, y por unos pocos años esta fórmula se empleó mucho para inyecciones intramusculares diarias. Esto era especialmente apropiado como inyección única de 300.000 unidades para el tratamiento de la gonorrea. Recientemente, algunos laboratorios farmacéuticos han conseguido, combinando penicilina y procaína, producir una sal de procaína de penicilina, la cual, a causa de su baja solubilidad, asegura un mantenimiento prolongado de niveles sanguíneos adecuados; se administra corrientemente como suspensión acuosa o en aceite con un 2 por 100 de monoestearato de aluminio. La procaína-penicilina ha llegado a ser tan generalmente empleada que el 70 al 75 por 100 de la cantidad total de penicilina se produce en esta forma. La administración oral de la penicilina en tabletas tampón va aumentando poco

a poco, haciendo falta de tres a cinco veces la cantidad necesitada en administración parenteral para obtener adecuados niveles sanguíneos. Diversos procedimientos para inhaloterapia se han desarrollado, y de esta manera se emplea una cantidad apreciable. También se emplea en cantidad en forma de preparaciones veterinarias, y en los últimos meses, una cantidad cada vez mayor ha sido empleada para suplemento de la alimentación junto con la vitamina B_{12}.

La penicilina presenta una paradoja: Ha sido el primer antibiótico efectivo terapéuticamente descubierto; todavía permanece siendo el menos tóxico y el más útil, a pesar del hecho de haber sido descubiertos más de trescientos otros. Es producida por mohos saprofíticos comunes y todavía permanece como el único antibiótico útil derivado de verdaderos hongos filamentosos o carnosos, cuya toxicidad permite su uso sistemático, aunque más de 130 antibióticos de tal origen han sido conocidos posteriormente. Cuando uno habla de la penicilina como una droga milagrosa no se deben considerar solamente sus propiedades curativas; se debe referir uno también a su descubrimiento y a su fuente. Igual a su importancia como droga, ha sido su efecto al precipitar y mantener toda la investigación, sin precedentes, para otras drogas de origen microbiano. Por todas partes los investigadores dicen: «Si esto pudo suceder una vez, seguramente podrá suceder otra».

ESTREPTOMICINA

Por más de tres décadas, los actinomicetos han recibido especial estudio por el Profesor S. A. Waksman, de la Universidad de Rutgers. Allá por el año treinta y tantos, tales investigaciones fueron intensificadas, prestándose particular atención a los problemas relacionados con el antagonismo entre microorganismos. Los actinomicetos exhiben este fenómeno con frecuencia no corriente. Un hecho ya conocido para Waksman y para los microbiólogos del suelo en general. Era natural, por lo tanto, que su atención se enfocase sobre ello. Yo dudo, sin embargo, que cualquiera, mirando hacia el futuro objetivamente en 1941, y con la penicilina y tirotricina ya conocidas, podría haber predicho que los próximos antibióticos más sobresalientes clínicamente vendrían todos de este solo grupo de microorganismos. Nos referimos, desde luego, a la estreptomicina, cloromicetina, aureomicina y terramicina.

El primer antibiótico de origen actinomicetal, actinomicina, fué obtenido por Waksman y Woodruff en 1940, de una nueva especie: S t r e p t o m y c e s

antibioticus, y era especialmente activo in vitro contra cocos y bacilos Gram-positivos. Una vez probado que era muy tóxico para los animales de experimentación, ya no fué considerado como una droga potencialmente útil. Un segundo antibiótico, streptotricina, fué obtenido un año más tarde por el mismo laboratorio (Waksman y col., 1941). Este era derivado de otra especie: Streptomyces lavandulae. Este, al principio, pareció ser prometedor para algunas infecciones, pero más tarde mostró una toxicidad diferida, la cual impidió su uso clínico. Un tercer y enormemente más útil antibiótico, estreptomicina, fué anunciado primeramente por Schatz, Bugie y Waksman en enero de 1944; éste era producido por estirpes de Streptomyces griseus (Krainsky) Waksman y Henrici. Aislado del suelo, y exhibiendo un espectro bacteriano muy favorable, era activo contra especies Gram-negativas y Gram-positivas, mostrando una actividad substancial contra el Mycobacterium tuberculosis. Su toxicidad era comparativamente baja; su LD50 (DML) en el ratón, aproximadamente de 0,75 gr. por Kg. de peso, admistrados subcutáneamente; los niveles máximos sanguíneos se alcanzaban a los treinta minutos. En experimentos con animales se encontró que la estreptomicina daba una buena protección contra las infecciones con patógenos Gram-negativos insensibles a la penicilina. Pareciendo así probable que en la estreptomicina el clínico tendría un antibiótico para complementar la acción de la penicilina.

Estudios clínicos llevados a cabo en la Clínica Mayo y en el «National Research Council's Commitee on Chemotherapeutics and Other Agents» (Keefer, 1946) establecieron la eficacia de la estreptomicina en el tratamiento de la tularemia, en infecciones con Hemophilus influenzæ y en infecciones del tramo urinario y bacteriemias causadas por bacterias Gram-negativas, y se encontró que la estreptomicina tenía un efecto supresivo sobre el crecimiento del bacilo tuberculoso en el hombre.

Al acumularse la información de este tipo, muchas firmas farmacéuticas que ya fabricaban penicilina comenzaron el estudio de la estreptomicina, y emprendieron su producción. Con la experiencia ganada al adaptar el proceso de cultivo sumergido para la fermentación de la penicilina, los fabricantes fueron capaces de lograr la producción de estreptomicina en larga escala casi tan rápidamente como en obtener los fermentadores de capacidad apropiada.

Las estirpes recientemente aisladas de Streptomyces griseus producen corrientemente estreptomicina en cantidades variables, mientras que los cultivos, mantenidos largo tiempo como stocks en el laboratorio, comúnmente

pierden tal capacidad; ésta puede, en todo caso, ser restablecida por el uso apropiado de agentes mutagénicos (Waksman y Harris, 1949). Aunque un mejoramiento de las estirpes, el S. griseus no ha sido tan espectacular como en el caso del P. chrysogenum, citado antes, se ha conseguido un incremento de su productividad por la aplicación de rayos X, radiación ultravioleta y exposición a los compuestos de mostaza nitrogenada. Dulaney col. (1949) obtuvieron mutantes, produciendo más de 3,2 veces tanta estreptomicina como la estirpe madre, empleando ultravioleta, mostaza nitrogenada $(CLCH_2CH_2)_2N$ y ultravioleta, en experimentos sucesivos.

Los actinófagos han presentado un problema muy serio en la producción de estreptomicina; esta dificultad ha podido ser salvada gracias al desarrollo de estirpes fogo-resistentes.

La producción de estreptomicina ha ido gradualmente elevándose desde enero de 1946, cuando la droga fué puesta por primera vez a la venta, alcanzando actualmente una cantidad mensual cercana a los doce millones de gramos.

La estreptomicina es generalmente considerada como la droga de elección en el tratamiento de la tularemia; es de especial utilidad en las infecciones causadas por Hemophilus influenzæ y Klebsiella pneumoniæ y en enfermedades causadas por el grupo coli-aerogenes. También se emplea corrientemente para combatir una serie de infecciones resistentes a las sulfamidas y a la penicilina; en combinación con la penicilina, tiene aplicación en el tratamiento de infecciones mixtas de los trayectos urinarios y respiratorio superior y en casos de endocarditis que no muestren mejoría satisfactoria con penicilina sola. En combinación con polimixina y bacitracina, dos antibióticos de origen bacteriano, la estreptomicina ha sido recomendada en cirugía intestinal como profiláctico preoperativo. Su mayor aplicación, sin embargo, es el tratamiento de la tuberculosis en sus distintas formas, y más del 70 por 100 de la droga vendida se emplea para este propósito. Aunque la estreptomicina no es una droga ideal, es el agente quimioterápico conocido más efectivo para el tratamiento de la tuberculosis en el hombre. Es especialmente importante, aliviando los síntomas de muchas formas de la enfermedad, permitiendo más tiempo para otros tipos de terapéutica.

La estreptomicina, cuando se emplea durante largos períodos, muestra una considerable neurotoxicidad; esto es manifiesta generalmente por disturbios en el nervio octavo, causando o bien disfunción vestibular o, en algunos casos, sordera. La respuesta desfavorable se intensifica en aquellos pacientes que sufren de insuficiencia renal.

Pronto fué dirigida la producción hacia la dihidroestreptomicina (preparada a partir de estreptomicina por hidrogenación catalítica), y pruebas clínicas comparativas que indicaron substancialmente menos toxicidad para este derivado que para sus sales (cloruro, sulfato). Desde 1948, una proporción cada vez mayor de estrepmicina ha sido puesta en el mercado en la forma dihidro, la cual hoy representa el 80 por 100 de la producción, aproximadamente. El tratamiento de los pacientes tuberculosos con un régimen interrumpido de estreptomicina (una o dos veces por semana) y administración diaria de ácido paraaminosalicílico (PAS) ha tendido a reducir mucho más la incidencia de síntomas neurotóxicos, y al mismo tiempo ha reducido grandemente el desarrollo de bacilos tuberculosos resistentes a la estreptomicina, que aparecen con el empleo continuo de la misma.

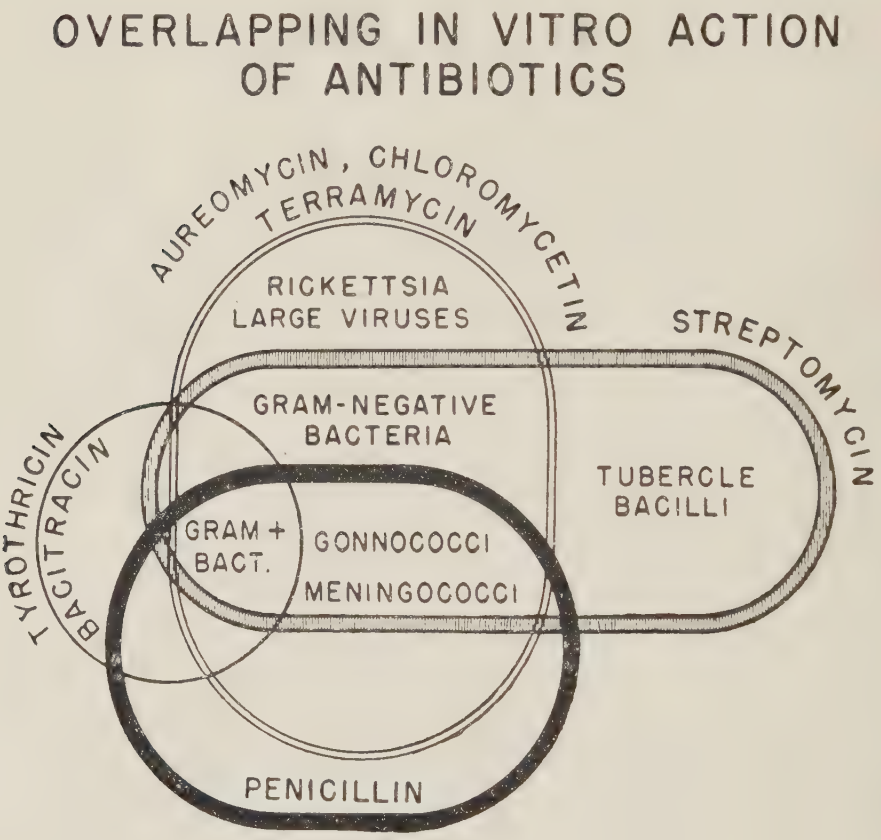
El fenómeno de resistencia a la estreptomicina no está, de ninguna manera, limitado al Mycobacterium tuberculosis, aunque es más agudo en ésta que en la mayor parte de las otras infecciones, a causa de los tratamientos tan prolongados que en ella se requieren.

En muchos laboratorios los investigadores están buscando frenéticamente alguna droga microbiana que posea las propiedades curativas de la estreptomicina, pero que carezca de sus inconvenientes. Se han descubierto dos antibióticos que han sido sugeridos para llenar este papel. El primero de ellos, neomicina, producido por Streptomyces fradiæ, fué anunciado por Waksman y Le Chevalier en 1949; su actividad in vitro era buena aun contra las formas estreptomicino-resistentes del bacilo tuberculoso. Sin embargo, algunas pruebas clínicas no han podido establecer su superioridad con la estreptomicina; por el contrario, se observan trastornos renales y sordera progresiva, mientras que aparecen formas resistentes a ella, igual que pasa con la estreptomicina. El segundo es la viomicina, aparentemente producido por un Streptomyces de identidad no bien establecida, fué descubierto casi simultáneamente por los investigadores de las compañías Parke Davis y Pfizer. También la inhibición del bacilo tuberculoso in vitro es buena. Los experimentos con animales son prometedores, pero los datos clínicos que hemos podido obtener no manifiestan que sea una droga superior.

LOS ANTIBIOTICOS DE AMPLIO ESPECTRO

Como hemos visto, la penicilina es una droga de valor incalculable para el tratamiento y curación de muchas infecciones bacterianas; la estreptomi-

cina complementa la acción de la penicilina, y, a pesar de sus serias limitaciones, constituye el mejor agente quimioterápico hasta ahora obtenido para el tratamiento de la tuberculosis y ciertas infecciones causadas por bacterias Gram-negativas. Aunque estas dos drogas microbianas sean importantes, aún dejan sin controlar una multitud de temidas infecciones. Desde 1947, tres drogas antibióticas han sido descubiertas, las cuales estrechan mucho más, pero no cierran, el campo de las infecciones no controladas. Estas, también llamadas drogas de amplio espectro, cloramfenicol, aureomicina y terramicina, tienen mucho en común; todas son producidas por especies de Streptomyces y todas se caracterizan por su capacidad para inhibir bacterias Gram-negativas y Gram-positivas, rickettsias (paso intermedio entre bacterias



y verdaderos virus), ciertos grandes virus y muchas bacterias que son resistentes a la penicilina y estreptomicina; de aquí la denominación de antibióticos de amplio espectro. Cada uno de éstos fué descubierto independientemente, y cada uno parece encontrar algún campo de aplicación especial.

Cloramfenicol.

El descubrimiento y la caracterización química preliminar del cloramfenicol a cloromicetina (1), como generalmente se conoce, fué anunciado por John Ehrlich y colaboradores de Parke Davis y Paul R. Burkhloder, de la Universidad de Yale, en octubre de 1947. El antibiótico fué obtenido de una especie de Streptomyces aislada del laboratorio de Burkhloder de una muestra de suelo Mulched, recogido cerca de Caracas (Venezuela). Las primeras fermentaciones y estudios químicos fueron llevados acabo en Betroe. Casi simultáneamente con este descubrimiento, David Gottlielb y colaboradores habían aislado de un suelo compuesto, en la Universidad de Illinois, una especie sin nombrar de Streptomyces, la cual producía un antibiótico aparentemente idéntico a la cloromicetina (1947). En el siguiente año, los dos equipos de investigadores publicaron juntamente un artículo titulado «Streptomyces Venezuelæ n. sp., la fuente de la cloromicetina». Desde el principio, los estudios fueron conducidos en cultivos sumergidos, y las pruebas preliminares indicaron el efecto beneficioso de la glicerina como fuente de carbono y productos seleccionados de la carne como fuente de nitrógeno. La fermentación fué aún mejorada por la adición de molassas. Se encontró que la cloromicetina inhibía una amplia variedad de especies bacterianas, incluyendo formas Gram-negativas y Gram-positivas; era muy activa contra rickettsia en los embriones de pollo, siendo el primer antibiótico prometedor en este campo, era relativamente inactiva contra el Mycobacterium y era inactiva contra los hongos.

La síntesis de la cloromicetina fué anunciada en abril de 1948 en San Francisco, en la Reunión de la «American Chemical Society», por Crooks, Rebstock y otros, habiéndose concedido una importancia primordial a esta forma de producción. Normalmente, más de la mitad de la cloromicetina en el mercado es producida por síntesis química, y una nueva fábrica, ahora en construcción, empleará este método exculsivamente. La cloromicetina es el primero y solo

(1) Marca registrada: Parke Davis and Company.

antibiótico para el cual una síntesis práctica ha sido conseguida. Clínicamente, la cloromicetina de origen sintético y fermentativo son igualmente efectivas.

Han sido hechas amplias pruebas clínicas. Smadel y otros (1948 y sig.) han establecido la cloromicetina como un agente terapéutico muy útil. Es la droga de elección para el tratamiento de la fiebre tifoidea y encuentra una aplicación importante en otras infecciones de agentes Gram-negativos de los trayectos gastro-intestinal y urinario. En infecciones quirúrgicas mixtas amplía el campo de la penicilina, sin poseer el azar de la estreptomicina. Es especialmente útil en el tratamiento de infecciones rickettsiales, tales como la fiebre Q, la fiebre manchada de las montañas rocosas, tifus, etc. Puede ser empleada en las pulmonías primarias atípicas (producidas por virus) y produce una respuesta favorable contra el *Hemophilus pertussis*. Es activa contra los gonococos y espiroquetas, pero su empleo en estas enfermedades está limitado a las infecciones no sensibles a la penicilina.

La cloromicetina es relativamente no tóxica; la droga se administra oralmente, y las dosis van generalmente de uno a cuatro gramos por día, dependiendo de la naturaleza de la enfermedad y la intensidad de la infección. En el laboratorio pueden desarrollarse organismos mostrando resistencia a la cloromicetina, pero en la práctica clínica hasta ahora no se ha presentado tal problema.

Aureomicina.

El descubrimiento de la aureomicina por B. M. Duggar y asociados de los laboratorios de Lederle fué anunciado en la conferencia sobre aureomicina en julio de 1948, en la Academia de Ciencias de Nueva York. El antibiótico es producido por una nueva especie de *Streptomyces*, el *S. aureofaciens*, el cual fué aislado de una muestra de suelo recogida en un campo de Missouri.

La fermentación es llevada a cabo en tanques ampliamente aireados, con agitación, como en la manufactura de otras drogas antibióticas. Se sabe que se han realizado mejoras en esta fermentación, con el perfeccionamiento de la estirpe al exponerla a diferentes agentes mutagénicos. Algunos actinófagos específicos se han encontrado, pero pueden ser aparentemente controlados por el uso de estirpes fago-resistentes y una asepsia estricta a través de la fermentación.

La aureomicina es ahora producida en grandes cantidades, siendo generalmente asequible para todos los médicos.

La toxicidad de la aureomicina es muy baja, y se pueden administrar grandes dosis con pocos efectos secundarios, excepto por náuseas y vómitos, ocasionados cuando se administran dosis sostenidas.

La droga se da en forma de clorhidrato, y la administración es casi siempre por vía oral. Las dosis comúnmente van de uno a tres gramos diarios, divididos en espacios de seis horas. La aureomicina puede ser administrada por vía intravenosa, en cuyo caso se reduce bastante la dosis.

La aureomicina posee un gran poder de penetración, siendo obsorbida por el sistema nervioso central, articulaciones óseas, etc., más fácilmente que cualquier otra droga microbiana. Por esta razón, puede encontrar aplicación donde la infección específica pudiera, de otro modo, indicar penicilina o algún otro antibiótico.

La aureomicina es considerada por muchos como la droga de elección para el tratamiento de varias infecciones y enfermedades rickettsiales causadas por el grupo psittacosis-linfograduloma-venereum, pulmonías de origen virósico y por una gran variedad de infecciones causadas por cocos, micrococos y spiroquetas resistentes a la penicilina. Es efectivo en las infecciones producidas por Klebsiella pneumoniæ, Hemophilus influenzæ y Pasteurella tularense. Es ampliamente usada para combatir infecciones mixtas de los trayectos gastrointestinal y urinarios. En combinación con la dihidroestreptomicina permite un tratamiento prometedor para la brucelosis. Puede ser empleada ventajosamente en el tratamiento de la peritonitis en casos graves, siendo combinada frecuentamente con penicilina. Ha sido empleada con efectividad en el tratamiento de la actinomicosis. La aureomicina es efectiva en el tratamiento de la disentería amebiana, siendo su acción posiblemente la de eliminar las bacterias de las cuales viven las amebas. Por la misma razón es un tratamiento preoperatorio favorable, en el trayecto alimenticio.

Uno de los mayores inconvenientes de la aureomicina y otros antibióticos de amplio espectro pueden derivar de su capacidad de esterilizar el trayecto gastrointestinal. Los pacientes sujetos a un tratamiento continuado, por vía oral, pueden desarrollar una diarrea conteniendo un fuerte crecimiento de Candida albicans, y, a menos que la terapéutica sea corregida de acuerdo con el caso particular, puede terminar con una «curación» en la que los efectos secundarios sean tan desagradables como la enfermedad inicial. Ya han sido comunicadas algunas muertes ocasionales debidas a infecciones (moniliasis) de Candida.

En adición de su importancia como antibiótico en el verdadero sentido de

la palabra, la aureomicina ha adquirido también importancia desde que Jukes y Stokstad (1950) demostraron que ejercía un profundo efecto estimulante de crecimiento en pájaros y otros animales.

Terramicina.

El tercer antibiótico de amplio espectro, la terramicina, representa la culminación de un programa intensivo de prueba de diferentes organismos, conducido por la compañía Charles Pfizer. Fué anunciado primeramente en «Science», en una breve comunicación, por Finlay y col., en enero de 1950. El siguiente junio tuvo lugar una conferencia sobre terramicina en la Academia de Ciencias de New York, y fué revelada una extensa información referente a sus propiedades biológicas, farmacología e indicaciones clínicas.

La terramicina representa un producto metabólico de una especie nueva de strectomyces: S. Rimosus, obtenido de un suelo de origen no determinado; más de 100.000 muestras de suelo de todas las partes accesibles del mundo fueron examinadas; se aislaron hongos en cultivos puros, y después fueron probados en pequeños frascos con agitación para ver una posible producción de agentes antibióticos interesantes (Kane y col., 1950).

La terramicina es de notar por su baja toxicidad, estando limitados sus efectos secundarios, aparentemente, a disturbios gastrointestinales. A diferencia de la aureomicina, no se difunde fácilmente por el área cerebroespinal, por lo cual se conduce de una manera bastante semejante a la penicilina; sin embargo, se difunde fácilmente por la cavidad pleural. La droga se encuentra en el mercado como el clorhidrato cristalino y se administra generalmente por vía oral, aunque también puede darse por vía intravenosa, en cuyo caso se emplea con glicinato sódico como tampón. También se puede obtener en pomadas, elixires para uso pediátrico y otras formas farmacéuticas. Actualmente la droga se produce en grandes cantidades.

La terramicina pudo ser empleada por primera vez para usos clínicos en la primavera de 1950. En general, su utilidad se aproxima a la de la aureomicina; de aquí que una enumeración detallada no sea necesaria. Se han obtenido respuestas especialmente favorables en el tratamiento de amebiasis y brucelosis. Las infecciones debidas a bacterioides han respondido satisfactoriamente. La terramicina es preferida por algunos clínicos para el ataque de infecciones bacterianas mixtas de los trayectos urinario y gastrointestinal. Curaciones sorprendentes se han obtenido en sífilis resistentes a la penicilina. La terramicina

no es efectiva en las infecciones de Proteus vulgaris y Pseudomonas aeruginosas. Pruebas clínicas llevadas a cabo hasta ahora en varios hospitales han deshecho la temprana esperanza de que la terramicina pudiera ser un agente efectivo para el tratamiento de la tuberculosis.

La resistencia a la terramicina puede ser desarrollada en diferentes especies bacterianas cultivando el organismo en presencia de concentraciones de la droga cada vez mayores. Como dato interesante, se ha visto que estirpes resistentes a la terramicina muestran una resistencia paralela a la aureomicina y pueden mostrar alguna resistencia a la cloromicetina (Fusillo y Romansky, 1951).

Cuando se incorpora la terramicina al alimento para animales, produce una respuesta de crecimiento comparable a la aureomicina, penicilina y bacitracina.

ANTIBIOTICOS DE ORIGEN BACTERIANO

Se han descrito muchos potentes antibióticos de origen bacteriano, y, sin embargo, ninguno de éstos ha llegado a la altura de droga importante.

De los diversos grupos bacterianos, el género Bacillus es particularmente productivo, habiendo sido identificados de este solo género no menos de 35 antibióticos. Sin excepción, los antibióticos producidos por especies de Bacillus son polipéptidos, y cuando se emplean parenteralmente, son neurotóxicos. Los antibióticos de esta clase poseen corrientemente una alta actividad antibacteriana; y se emplean para los que proscriben la vía intravenosa. De los diversos antibióticos de origen bacteriano importantes, aunque de usos limitados, se pueden considerar los siguientes Tirotricina, Bacitracina, Polimixina y Subtilina.

Tirotricina.

Ya mencionada, fué uno de los primeros antibióticos aislados y caracterizados; es producido por un bacilo del suelo, identificado como Bacillus brevis. Los primeros estudios mostraron que poseía una gran actividad antibacteriana, especialmente contra los cocos Gram-positivos, y su posible uso para combatir infecciones de este tipo fué sugerido por Dubos. Una toxicidad demasiado grande ha proscrito su uso para tratamiento de infecciones generalizadas; sin embargo, ha encontrado aplicación como antiséptico en vendajes y en preparaciones para el tratamiento de infecciones del trayecto superior respiratorio.

Bacitracina.

Descrita primeramente por Johnson y col. (1945), fué obtenida de un Bacillus no identificado, aislado de una herida purulenta. Recientemente ha sido identificado por Nathan R. Smith como, representando probablemente, el B. licheniformis. El antibiótico es un polipéptido que se acumula en el líquido de cultivo libre de células bacterianas. No es irritante para el tejido vivo, pero su neurotoxicidad hace que su empleo sea limitado en infecciones generalizadas. Ha sido aprobada por la «Food and Drug Administration» para uso tópico general, y encuentra aplicación en el tratamiento de lesiones superficiales, infecciones quirúrgicas y para el alivio de la congestión respiratoria. En mayo de 1951 fué aprobado para uso parenteral, solamente en hospitales, donde los pacientes pueden ser observados constantemente por si presentan síntomas de neurotoxicidad. Es una droga salvadora de vidas en algunas infecciones debidas a bacterias resistentes a otros antibióticos. En combinación con la estreptomicina y polimixina B., se emplea para esterilizar los intestinos antes de la cirugía intestinal. En combinación con la neomicina (bajo el nombre registrado de neobacina), se recomienda su empleo en las diarreas idiopáticas. Tiene también valor como un suplemento de la alimentación, comparándose muy favorablemente en este aspecto con la aureomicina, penicilina y terramicina.

La bacitracina se produce actualmente en bastantes grandes cantidades y se encuentra sobre la línea fronteriza como una droga potencialmente importante. Se están haciendo grandes esfuerzos para modificarla de tal manera que sea posible reducir su toxicidad.

Polimixina.

Descubierta independientemente por Benedict y Langlykke (1947) en el «Northern Regional Laboratory», y por Stansly y col. (1947), de la «American Cyanamid Company», es producida por varias estirpes del Bacillus polymyxa. Casi simultáneamente, Answorth y col. (1947), de los laboratorios Wellcom, en Inglaterra, descubrieron el mismo antibiótico, aplicándole el nombre de aerosporin (marca registrada). Como en el caso de la penicilina, la polimixina representa, en realidad, una familia de compuestos muy relacionados, los cuales difieren cuantitativamente en su efecto sobre varias bacterias sensibles. En general, las bacterias Gram-negativas son fuertemente inhibidas, y

cuando se descubrió, al principio se pensó que la polimixina podría contribuir fundamentalmente a la terapéutica en este campo.

Su neurotoxicidad, apreciable, limita su empleo en las infecciones generalizadas. Al igual que la bacitracina, ha sido aprobado su empleo solamente en los hospitales. Es una droga salvadora de vidas en ciertas infecciones por Pseudomonas.

Como se menciona anteriormente, ha encontrado algunas aplicaciones en la terapéutica de mezclas de antibióticos. La polimixina D. ha demostrado ejercer algún estímulo de crecimiento en pollos.

Subtilina.

Un antibiótico producido por unas raras estirpes de Bacillus subtilis; fué descubierto por Hansen y Hirschmann (1944) en el «Western Regional Research Laboratory». A diferencia de la bacitracina y polimixina, este antibiótico permanece en su mayor parte dentro de las células bacterianas; de aquí que deba ser liberado por algún tratamiento apropiado. Este antibiótico muestra una alta actividad antibacteriana, particularmente contra las formas Gram-positivas. Su solubilidad en solución fisiológica y en los flúidos del cuerpo es muy baja. Igual que la bacitracina y polimixina, es un polipéptido, y, a diferencia de ellos, es fácilmente digerible por la tripsina y pepsina. Esta última característica ha sugerido su posible empleo como un preservador para alimentos en lata sometidos a débil calentamiento. Han sido obtenidos algunos resultados prometedores en este aspecto en los «Western Laboratory». Sin embargo, una disminución gradual en la actividad antibiótica, unida a una incapacidad de esterilizar completamente el producto en ausencia de un proceso normal de calentamiento, indica que la subtilina no es una solución adecuada al problema. La baja solubilidad de la subtilina la ha proscrito como droga utilizable para el hombre.

LOS ANTIBIOTICOS COMO SUPLEMENTO DE LA ALIMENTACION DE LOS ANIMALES. UN DOBLE EFECTO

Es bien conocido el efecto que la vitamina B_{12} produce en el tratamiento de la anemia perniciosa (Rickes y col., 1948) y al mismo tiempo que tiene un marcado poder de crecimiento en animales, especialmente en pollos (Bird, 1948).

Rickes y col. (1948) hicieron un descubrimiento de gran importancia; encontraron actividad vitamínica B_{12} en los caldos de cultivo de varias bacterias y actinomicetos, incluyendo streptomyces griseus, aislándose la vitamina B_{12} en forma cristalina de las fermentaciones del S. griseus y encontrándose que tenía las mismas propiedades físicas y químicas que la obtenida a partir del hígado y además poseía las mismas propiedades antianémicas y promotoras del crecimiento que la vitamina derivada del hígado. Pronto se conoció que la vitamina B_{12} se producía también en otras fermentaciones microbianas. Así fué realizado el primer efecto, o sea, el aprovechamiento de los residuos de las fermentaciones para producir antibióticos como fuente de obtención muy barata de la vitamina B_{12}.

El segundo efecto surgió de una manera también interesante; Jukes y colaboradores (1949, Laboratorios Lederle), alimentando pollos con restos de fermentación de aureomicina y vitamina B_{12} obtuvieron una respuesta de crecimiento muy superior a aquella atribuíble al solo contenido de vitamina B_{12}, comprendiéndose así que existía un efecto redoblado estimulador del crecimiento por la combinación aureomicina-vitamina.

Efectos comparables de estímulo del crecimiento, producidos por la vitamina B_{12} más la aureomicina, fueron demostrados pronto por McGinnis y col. (1949) en pavos, en cerdos, etc.

Las cantidades de vitamina B_{12} y antibiótico requeridas para obtener una respuesta máxima de crecimiento varían con el tipo de dieta de los animales en prueba. Jukes (1950) estableció que el nivel práctico de aureomicina, penicilina en forma procaínica, bacitracina o terramicina era, aproximadamente, de 10 gramos por tonelada de alimento, según experimento en pollos, pavos y cerdos.

Se han desarrollado muchas teorías acerca de las causas ocultas de los efectos observados. Parece ser que la vitamina B_{12} actúa de manera semejante que las otras vitaminas del complejo B; es decir, que efectúa un estímulo directo sobre el animal que lo recibe; esto no es igualmente claro con respecto a los antibióticos, ya que no se observa respuesta de crecimiento a menos que el antibiótico sea administrado por vía oral. Se cree corrientemente que el antibiótico altera de algún modo beneficioso la flora intestinal. Las siguientes explicaciones han sido sugeridas: 1.º Ciertas bacterias intestinales, p. e., Clostridium, productoras de enterotoxina, son eliminados o contenidos, y de esto han sido publicados datos apoyando su evidencia. 2.º El número total de microorganismos intestinales es reducido, por lo tanto, disminuyendo la lucha

por las substancias nutritivas entre aquéllos y el animal huésped. 3.º El antibiótico estimula la síntesis intestinal de vitaminas por la microflora, normalmente presente, lo que también se ha observado experimentalmente. Que esto, y no otras de las teorías citadas anteriormente, puede representar el efecto total, parece estar indicado por el bello experimento llevado a cabo por Stokstad y Jukes (1950). Estos autores prepararon un extracto alcalino de aureomicina, el cual no mostró actividad microbiológica al ser ensayado contra staphylococcus aureus, y con él obtuvieron respuesta de crecimiento al darlo como alimento a pollos. Esto no prueba necesariamente que toda la acvidad antibacteriana contra todos los microorganismos del intestino fuera destruída. La interacción entre antibiótico, animal, y su flora intestinal es, sin duda, muy compleja. En proporción a su complejidad, sin embargo, la resolución de estas relaciones añadirían una parte muy interesante a nuestro conocimiento sobre nutrición animal y podrían contribuir grandemente a una comprensión de la acción de la droga en campos lejanos de su problema inmediato.

UN AREA DE INTENSO ESTUDIO

La cita bíblica «muchos son los llamados pero pocos los escogidos» resume claramente la investigación sobre drogas antibióticas durante la pasada década. Hace diez años no se conocían más de media docena de substancias antibióticas; hoy el número pasa de 300; de éstas, sólo cinco han alcanzado la categoría de drogas mayores, las cuales son: penicilina, estreptomicina, cloramfenicol, aureomicina y terramicina; otras pocas encuentran aplicaciones limitadas, y por hoy permanecen como drogas importantes en potencia: tirotricina, polimixina, bacitracina, subtilina, neomicina, tiolutina y, posiblemente, viomicina. Todas las otras, por una u otra razón, no son admisibles para el uso terapéutico. En muchos casos, el nivel de la actividad es muy bajo; en algunos, las substancias son inactivas in vivo; la mayor parte son demasiado tóxicas para su uso en animales y en el hombre.

La producción de substancias antibióticas parece ser muy común en la mayor parte del reino vegetal, habiéndose obtenido de semillas de plantas, líquenes, diversos grupos de hongos, los actinomicetos, y bacterias. Baron (1950) hizo una lista de 141 antibióticos diferentes, sin incluir los sinónimos; pero de todas maneras no existe en ningún lugar donde se hayan enumerado todos los antibióticos conseguidos y, por tanto, es imposible el dar un número exacto de ellos.

Buscando en todas las fuentes posibles para nosotros, hemos sido capaces de hacer una lista con 388 antibióticos, de los cuales 33 sabemos que representan sinónimos y 57 aún no tienen nombre; alguno de estos últimos, cuando se caractericen completamente, se encontrará que representan antibióticos ya conocidos. Por estas razones, hemos tomado el número 300 como representante probable del número de antibióticos descritos diferentes que existen en la actualidad.

La probabilidad de «descubrir» un antibiótico ya estudiado por algún otro aumenta diariamente. ¿Qué podemos hacer acerca de esto? El establecimiento de un registro nacional o, aún mejor, internacional de substancias antibióticas y de los organismos que las producen, podría hacernos avanzar en la resolución de este problema.

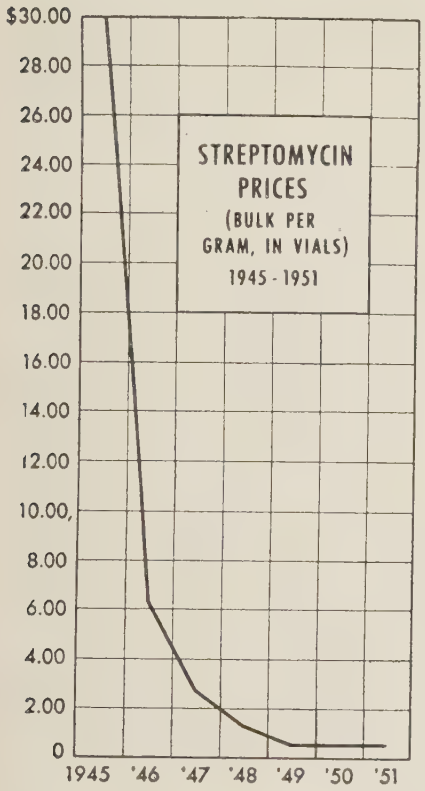
No podemos decir cuántos investigadores han trabajado con antibióticos durante la pasada década; tampoco podemos conocer en cuántos laboratorios y hospitales se han llevado a cabo investigaciones con antibióticos; de todas formas, cualquier trabajador en este campo —microbiólogo, químico, farmacéutico o clínico— puede decirnos que ha sido creada una enorme literatura científica. Con un criterio no muy definido, estimamos, aproximadamente, que más de 18.000 artículos de investigación tratando algún aspecto relativo al descubrimiento, producción o uso de antibióticos han aparecido desde 1940.

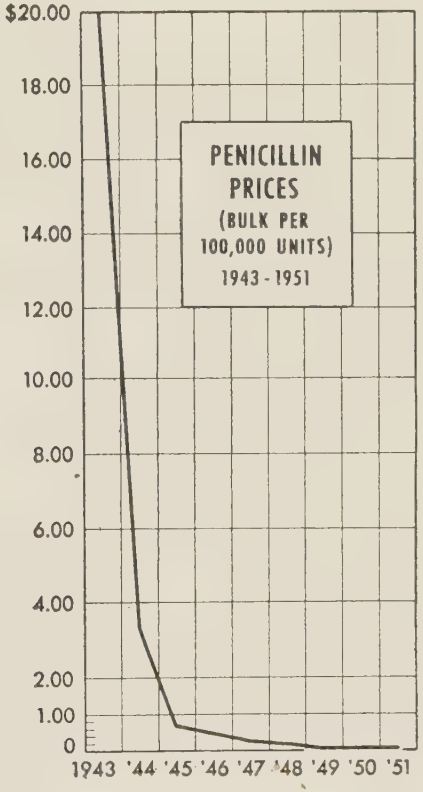
HECHOS, CIFRAS Y CALCULOS

Durante la pasada década, una industria nueva se ha desarrollado, extendiéndose rápidamente: la fabricación de drogas antibióticas; antes de este tiempo, se pensaba siempre en la fermentación industrial y la industria del alcohol, en sus varias formas, como sinónimo. Si uno fuera un bacteriólogo, podría pensar también en las fermentaciones acetona-butanol y vinagre; si fuera un micólogo, podría, o no, pensar en diversas fermentaciones de ácidos orgánicos. Hoy, el microbiólogo, aparte de su especialidad, debe pensar por fuerza en la industria de los antibióticos, ya que el valor de su producción anual se está aproximando rápidamente al de la industria del alcohol.

Durante la primera mitad de 1951, la producción mensual de penicilina estaba entre veintitrés y treinta y tres trillones de unidades, por un total semianual de más de ciento sesenta y siete trillones de unidades. Si nosotros acep-

tamos 40 centavos por millón de unidades como un valor razonable de venta al por mayor, como el peso neto del producto a este nivel de distribución, el valor total es, aproximadamente, de sesenta y siete millones de dólares en un período de seis meses. Si calculamos su valor como droga empaquetada, ya esta cifra sería, desde luego, bastante mayor. Durante el mismo período, la producción mensual de estreptomicina y de hidroestreptomicina oscila entre diez y doce millones de gramos, por un total semestral de más de sesenta y ocho millones de gramos. Si nosotros tomamos treinta y ocho centavos como valor del gramo, el valor neto de estreptomicina por el medio año resulta ser casi de veintiseis millones de dólares.





Actualmente no existen datos numéricos sobre la producción de los más nuevos antibióticos de amplio espectro, ya que son fabricados solamente por

firmas individuales. De todos modos, un informe recopilado por la División Química de los Estados Unidos, Comisión de Tarifas (julio 1951), da noventa millones como valor de los antibióticos diferentes de la penicilina y estreptomicina en 1950. Los antibióticos de amplio espectro representan toda esta cantidad, excepto una pequeñísima fracción.

Los antibióticos han encontrado una salida cada vez más importante en la alimentación animal. Se estima que el valor anual de los suplementos para alimentación de antibiótico-vitamina B_{12} puede ir de veinte a veinticinco millones de dólares; su valor para el labrador y el avicultor será algo mayor.

ANTIBIOTICOS Y SALUD PUBLICA

Mientras los antibióticos son importantes en la nutrición animal como catalizadores de la investigación microbiológica y como productos comerciales, su principal valor surge, desde luego, de su gran mejoramiento de la salud pública. Cada uno de nosotros conoce individuos cuyas vidas han sido salvadas o prolongadas por la penicilina y otras drogas antibióticas. Los informes acumulativos en tales casos, proyectados en una escala nacional, constituyen un impresionante cuadro favorable. Al intentar relacionar el valor de los antibióticos en la mejora de la salud pública, es casi mejor considerar separadamente las principales enfermedades causadas por diferentes grupos de microorganismos.

Las infecciones causadas por neumococcos fueron de las primeras en mostrar una respuesta favorable a la penicilina. En una corespondencia reciente, el Dr. Chester Keefer resume la situación presente como sigue:

«Las cifras de muerte por pulmonía neumocócica en los días anteriores a las sulfamidas sin tratamiento del suero específico era de 25 a 30 por 100; cuando las sulfamidas aparecieron, este porcentaje fué reducido al 10 por 100; ahora, con la penicilina, es menos del 5 por 100. Otro ejemplo es la meningitis neumocócica, la cual era en un 99 por 100 fatal antes de la penicilina y ahora muestra porcentajes de curación de más del 50 por 100. La endocarditis neumocócica tenía un índice de mortalidad de 100 por 100 antes de la penicilina y ahora muestra un porcentaje de recuperación de 25 por 100.»

Hoy, también, los antibióticos de amplio espectro sun utilizables para las pocas infecciones neumocócicas que no responden a la penicilina, como lo son las pulmonías atípicas de origen virósico.

Pasando a las diversas enfermedades causadas por estreptococos, Keefer escribe: «Con respecto a las infecciones estreptocócicas, se puede decir que se han obtenido dos resultados sobresalientes 1) Los casos de muerte han sido reducidos en las bacteriemias del 85 por 100 a menos del 10 por 100. 2) La penicilina ha prevenido muchas de las complicaciones por infección estreptocócica, tales como otitis media y mastoiditis, etc.»

Discutiendo las endocarditis bacterianas subagudas causadas por estreptococos no hemolíticos, Dowling (1948) establece que se pueden obtener curaciones aproximadamente del 70 por 100 con una penicilinoterapia adecuada y mantenida. Esta enfermedad era casi invariablemente fatal antes de la introducción de esta droga.

Los estafilococos se hacen resistentes a la penicilina mucho más fácilmente que la mayor parte de las bacterias. Así, son indicadas dosificaciones adecuadas y tratamiento prolongado; la seriedad del problema ha sido expuesta por Spink (1951), quien dice que se pueden emplear pruebas de sensibilidad *in vitro* con antibióticos de amplio espectro para indicar la terapéutica apropiada en estos casos.

Los gonococos están entre las bacterias más sensitivas a la penicilina, y hasta casos graves de artritismo y endocarditis de tal origen han sido tratados con éxito con esta droga. Por varios años se ha sabido que la gonorrea puede ser curada en la mayor parte de los casos por una sola dosis de penicilina de 300.000 a 500.000 unidades. Este organismo es también sensitivo a la estreptomicina y a las drogas de amplio espectro, de manera que el número limitado de casos insensibles a la penicilina pueden ser tratados con éxito con cualquiera de las drogas citadas.

Las fiebres tifoideas, la gravedad de la enfermedad y el número de muertes que de ella resultan, han sido reducidas substancialmente por el empleo de la cloromicetina y las drogas de amplio espectro. La cloromicetina es especialmente beneficiosa en infecciones y manifestaciones agudas de *Salmonella typhosa*; su eficacia combatiendo el portador de gérmenes está menos claramente establecida. La disentería y otras enfermedades causadas por bacterias Gram-negativas responden de una manera favorable, pero menos espectacular, a las drogas de amplio espectro.

Las enfermedades rickettsiales, tales como la fiebre moteada de las montañas rocosas, fiebre Q, tifus, etc., muestran una rápida y favorable respuesta a todas las drogas de amplio espectro. Las mismas drogas rebajan la gravedad de varias enfermedades producidas por virus, incluyendo la pulmonía atípica;

aunque queda la cuestión de que si los efectos observados resultan de la acción directa de las drogas sobre los virus o previniendo complicaciones debidas a las bacterias invasoras (Smadel, 1950).

El cuadro con respecto a la estreptomicinoterapia en la tuberculosis es aparentemente algo nebuloso. No existe duda de que la gravedad de la enfermedad es frecuentemente disminuída y, además, que este alivio de los síntomas agudos da un tiempo valioso para reposo en cama y otras medidas correctivas. Recientemente yo he hecho la siguiente pregunta: «¿Qué efecto ha tenido el uso de la estreptomicina sobre la incidencia y mortalidad de tuberculosis en los Estados Unidos?». El Dr. Keefer contesta:

«Los casos de muerte por tuberculosis en diferentes años son los siguientes:

1940	43,7	por 100.000
1945	34,4	por 100.000
1950	21,0	por 100.000

Es difícil decir ahora mismo en qué proporción ha contribuído la estreptomicina a la reducción de los tantos por ciento de mortalidad en la tuberculosis. Sin embargo, no hay duda de que las vidas han sido prolongadas; los síntomas han mejorado y muchos pacientes han tenido un acortamiento de su enfermedad, que hubiera sido de otra manera más larga.» Se recibieron otras respuestas (Doctor Long y Sir Allen Daley), las cuales confirman la anterior.

La penicilina ejerce una acción espiroqueticida muy poderosa cuando es administrada en bastante amplias dosis y por un período de tiempo adecuado. Empleada primeramente por Mahoney, en 1943, ha llegado a ser ahora la forma de terapéutica aceptada y standard para el tratamiento de la sífilis en sus diversas formas. Como anotan los «Public Health Repports», de los Estados Unidos, los casos de sífilis bajaron más del 50 por 100 entre 1943 y 1950.

El número de casos de sífilis primaria y secundaria es ahora todavía menor. Durante este mismo período, los fallecimientos debidos a la enfermedad bajaron de 16.263 a 11.616. Sin embargo, ya que éstos mostraron una baja también desde 1940, antes de la llegada de la penicilina, es obvio que otros factores han contribuído también en el descenso de la mortalidad. Las nuevas drogas de amplio espectro son también altamente activas contra el agente infeccioso y corrientemente se emplean en casos penicilino-resistentes.

Las drogas antibióticas desempeñan un papel cada vez más importante en la medicina militar. En las áreas de combate se emplean para contener el des-

arrollo de la gangrena caseosa y otras graves infecciones; detrás de las líneas de fuego encuentran una amplia aplicación en el tratamiento de osteomielitis y otras infecciones de heridas profundas, junto con los múltiples usos para los cuales se emplea en la práctica civil. Más importante, desde luego, ha sido el salvamento de incontables vidas; de enorme importancia, también, ha sido una reducción marcada del tiempo requerido para volver al estado de combatiente al personal hospitalizado.

TAREA INCOMPLETA

Junto a las infecciones expuestas anteriormente, para las cuales las drogas antibióticas constituyen unos agentes terapéuticos muy efectivos, hay una lista de otras enfermedades para las cuales no se conoce ningún antibiótico satisfactorio. Entre éstos se pueden citar los siguientes:

Cáncer en sus varias formas, influenza y constipado corriente (los antibióticos evitan complicaciones).

Poliomielitis.

Enfermedades producidas por virus.

Infecciones producidas por hongos, especialmente las de tipo generalizado. Proteus, Pseudomonas y algunos salmonellas.

Brucelosis en animales domésticos.

Enfermedades de plantas.

Conservación de alimentos.

Un antibiótico mejor que la estreptomicina es necesario para el tratamiento de la tuberculosis. Una droga ideal sería menos tóxica y mostraría menos tendencia a desarrollar estirpes resistentes.

La busca continua de antibióticos que cubran estas necesidades constituye la mayor dificultad y la mayor oportunidad para la década próxima.

BIBLIOGRAFIA

ABRAHAM, E. P., CHAIN, E., FLETCHER, C. M., GARDNER, A. D., HEATLEY, N. G., JENNINGS, M. A., and FLOREY, H. W. 1941. Further observations on penicillin. **Lancet** (London), 2: 177-188.

ANSWORTH, G. C., BROWN, A. M., and BROWNLEE, G. 1947. Aerosporm an antibiotic produced by Bacillus aerosporus Irier. **Nature,** 160: 263.

BACKUS, M. P., STAUFFER, J. F., and JOHNSON, M. J. 1946. Penicillin yields from new mold strains. **Amer. Chem. Soc. Jour.,** 68: 152-153.

BARON, A. L. 1950. Handbook of Antibiotics. Reinhold Publishing Corp., New York, N. Y. pp. 1-303.

BENEDICT, R. G. and LANGLYKKE, A. F. 1947. Antibiotic activity of Bacillus polymyxa. **Jour Bact.,** Abstract of Papers, 47th General Meeting pp. 24-25.

——— STODOLA, F. H., SHOTWELL, O., BORUD, A. M., and LINDENFELSER L. A. 1950. A new streptomycin. **Science,** 112: 77-78.

BIRD, H. R., RUBIN, M., and GROSCHKE, A. C. 1948. Relation of an unidentified dietary factor to the utilization of vegetable proteins by chickens. Official Report of the 8th World's Poultry Congress.

BORNSTEIN, SIEGBERT. 1940. Action of penicillin on enterococci and other streptococci. **Jour. Bact.,** 39: 383-387.

BROWNLEE, George. 1949. Antibiotics derived from Bacillus polymyxa. **Ann. N. Y. Acad. Sci.,** 51: 875-896.

CARPENTER, C. W., WELLER, D. M., and MARTIN, J. P. 1945. Studies with Penicillium notatum Westling in Hawaii. **Hawaii Planters Rec.,** 49: 1-24.

CHAIN, E., FLOREY, E. W., GARDNER, A. D., HEATLEY, N. G., JENNINGS, M. A., ORR-EWING, J., and SANDERS, A. G. 1940. Penicillin as a therapeutic agent. **Lancet** (London), 2: 226-228.

(The) Chemistry of Penicillin. 1949. Edited by Hans T. Clarke, John R. Johnson, and Sir Robert Robinson., pp. 1-1,094. Princeton University Press, Princeton, N. J.

CLUTTERBUCK, P. W., LOVELL, R., and RAISTRICK, H. 1932. Studies in the biochemistry of micro-organisms. XXVI. The formation from glucose by members of the Penicillium chrysogenum series of a pigment, an alkali-soluble protein and «Penicillin»-the antibacterial substance of Fleming. **Biochem. Jour.,** 26: 1,907-1,918.

COGHILL, R. D. 1944. Penicillin-Science's Cinderella. **Chem. Engin. News,** 22: 558-563.

——— and KOCH, R. S. 1945. Penicillin-a wartime accomplishment. **Chem, Engin. News,** 23: 2,310-2,316.

COUCH, J. N. 1950. Actinoplanes, a new genus of the Actinomycetales. **Jour. of the Elisha Mitchell Sci. Soc.,** 66: 87-92.

CURTIS, A. C., KITCHEN, D. K., O'LEARY, P. A., RATTNER, H., REIN, C. R., SCHOCH, A. G., SHAFFER, L. W., and WILE, U. J. 1951. Penicillin treatment of syphilis. **J. A. M. A.,** 145: 1,223-1,226.

DOWLING, HARRY F. 1948. The acute bacterial diseases-their diagnosis and treatment. pp. i-ix, 1-465, 55 figs. W. B. Saunders Co., Philadelphie, Pa.

DUBOS, R. J. 1939. Bactericidal effect of an extract of a soil bacillus on gram-positive cocci. **Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.,** 40: 311.

DUGGAR, B. M. 1948. Aureomycin: A product of the continuing search for new antibiotics. Aureomycin-a new antibiotic. **Annals of the New York Academy of Sciences,** 51: 177-181.

DUGGAR, Benjamin M. 1949. Aureomycin and preparation of same. U. S. Patent No. 2,482,055. Issued September 13.

DULANEY, E. L., RUGER, M., and HLAVAC, C. 1949. Observations on Streptomyces griseus. IV. Induced mutation and strain selection. **Mycologia,** 41: 388-397.

EHRLICH, J., BARTZ, Q. R., SMITH, R. M., JOSLYN, D. A., and BURKHOLDER, P. R. 1947. Chloromycetin, a new antibiotic from a soil actinomycete. **Science,** 106: 417.

——— GOTTLIEB, D., BURKHOLDER, P. R., ANDERSON, L. E., and PRIDHAM, T. G. 1948. Streptomyces venezuelae, n. sp., the source of chloromycetin. **Jour. of Bact.,** 56: 467-477.

EMMERICH, R. and LOW, O. 1899. Bakteriologische Enzyme als Ursache der erworbenen Immunitat und die Heilung von Infektionskrankheiten durch dieselben. **Ztschr. f. Hyg. u. Immunitat.,** 31: 1-65.

EWART, A. J. 1933. The presence of citrinin in Crotalaria crispata. **Ann. Bot.,** 47: 913-915.

FINLAY, A. C., HOBBY, G. L., P'AN, S. Y., REGNA, P. P., ROUTIEN, J. B., SEELEY, D. B., SHULL, G. M., SOBIN, B. A., SOLOMONS, I. A., VINSON, J. W., and KANE, J. H. 1950. Terramycin, a new antibiotic. **Science,** 111: 85.

FLEMING, Alexander. 1929. On the antibacterial action of cultures of a Penicillium, with special reference to their use in the isolation of B. influenzae. **Brit. Jour. of Exp. Path.,** 10: 226-236.

FLOREY, H. W., CHAIN, E., HEATLEY, N. G., JENNINGS, M. A., SANDERS, A. G., ABRAHAM, E. P., and FLOREY, M. E. 1949. Antibiotics. Oxford University Press, London, New York, Toronto, pp. 1-1,774, 2 vols.

FUSILLO, M. H. and ROMANSKY, M. J. 1951. The simultaneous increase in resistance of bacteria to aureomycin and terramycin upon exposure to either antibiotic. **Antibiotics and Chemotherapy,** 1: 107-109.

GRUNDY, W. E., SCHENCK, J. R., CLARK, R. K., Jr., HAEGIE, M. P., RICHARDS, R. K., and SYLVESTER, J. C. 1950. A note on a new antibiotic. **Arch. Biochem.,** 28: 150-152.

HERRELL, Wallace E. 1950. Newer antibiotics. **Annual Review of Microbiology,** pp. 101-128.

IRVING, G. W., Jr., FONTAINE, T. D., and DOOLITTLE, S. P. 1945. Lycopersicin, a fungistatic agent from the tomato plant. **Science,** 102: 9-11.

JANSEN, E. F. and HIRSCHMANN, D. J. 1944. Subtilin; an antibacterial product of Bacillus subtilis, culturing conditions and properties. **Arch. Biochem.,** 4: 297-309.

JOHNSON, B. A., ANKER, H., and MELENEY, F. L. 1945. Bacitracin: A new antibiotic produced by a member of the B. subtilis group. Preliminary Report, **Science,** 102: 376-377.

JUKES, Thomas H. 1950. Nutrition Symposium: second presentation. Proceedings semi-annual meeting Nutrition Council of the American Feed Mfgs. Assoc., Nov., 26-28. pp. 13-15.

——— STOKSTAD, E. L. R., TAYLOR, R. R., CUNHA, T. J., EDWARDS, H. M., and MEADOWS, G. B. 1950. Growth-promoting effect of aureomycin on pigs. **Archives of Biochem.,** 26: 324-325.

KANE, J. H., FINLAY, A. C., and SOBIN, B. A. 1950. Antimicrobial agents from natural sources: Terramycin. **Annals of the New York Academy of Sciences,** 53: 226-228.

KEEFER, Chester S. 1949. The clinical use of penicillin and streptomycin. In Antibiotics. Irving and Herrick. pp. 119-133. Chemical Publishing Co., Brooklyn, N. Y.

KLUYVER, A. J. and PERQUIN, L. H. C. 1933. Zur Methodik der Schimmelstoffwechseluntersuchung. **Biochem. Zeit.,** 266: 68-81.

LONG, E. R. and FEREBEE, B. A. 1950. A controlled investigation of streptomycin treatment in pulmonary tuberculosis. **Public Health Reports,** 65: 1,421-1,451.

MAHONEY, J. F., ARNOLD, R. C., and HARRIS, A. 1943. Penicillin treatment of early syphilis: a preliminary report. **Am. J. Pub. Health,** 33: 1,387-1,391; **Ven. Dis. Inform.,** 24: 355-357.

McGINNIS, J., STEPHENSON, E. L., LEVADIE, B. T., CARVER, J. S., GARIBALDI, J. A., IJICHI, K., SNELL, N. S., and LEWIS, J. C. 1949 Response of chicks and turkey poults to vitamin B_{12} supplements produced by fermentation with different organisms. Abstr. of Papers, 116th meeting of the **Am. Chem. Soc.**, p. 42A.

MINOT, G. R. and MURPHY, W. P. 1926. Treatment of pernicious anemia by a special diet. **J. A. M. A.**, 87: 470.

MOORE, Joseph E. 1951. An evaluation of public-health measures for the control of syphiles. **Lancet**, 260: 699-714.

MOST, H., TOBIAS, J. E., BOXICEVICH, J., and REARDON, L. V. 1950. Public **Health Report**, 65: 1,684.

MOYER, A. J. and COGHILL, R. D. 1946a. Penicillin. VIII. Production of penicillin in surface cultures. **Jour Bact.**, 51: 57-78.

——— 1946b. Penicillin. IX. The laboratory scale production of penicillin in submerged cultures by Penicillum notatum Westling (NRRL 832). **Jour. Bact.**, 51: 79-93.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL, KEEFER, CHESTER S., Chm. 1946. Streptomycin in the treatment of infections: a report of one thousand cases. **J. A. M. A.**, 132: 4-11; ibid., 132: 70-77.

NORRIS, L. C., MILLER, R. F., and YACOWITZ, H. 1950. Studies on the vitamin B_{12} requirements of poultry. Procedings of the 1950 Cornell Nutrition Conference for Feed Mfgs. pp. 53-56.

OTT, W. H., RICKES, E. L., and WOOD, T. R. 1948. Activity of crystalline vitamin B_{12} for chick growth. **J. Biol. Chem.**, 174: 1,047-1,048.

OYAAS, J. E., EHRLICH, J., and SMITH, R. M. 1950. Chemical changes during chloramphenicol (chloromycetin) fermentation. **Industrial and Engineering Chem.**, 42: 1,175-1,176.

PECK, S. M. and HEWITT, W. L. 1945. The production of an antibiotic substance similar to penicillin by pathogenic fungi (Dermatophytes). **Pub. Health Rpt.**, 60: 148-152.

PETERSON, W. H. 1947. Factors affecting the kinds and quantities of penicillin produced by molds. The Harwey Lectures, pp. 277-302, figs. 1-13. Science Press, Lancaster, Pa.

RAISTRICK, H. 1949. A region of biosynthesis. Proceedings of the Royal Society, A., 199: 141-168.

RAPER, K. B. 1943-1947. Penicillin. U. S. Dept. Agr. Yearbook, 699-710.

——— and **ALEXANDER, D. F.** 1945. Penicillin. V. Mycological aspects of penicillin production. **Elisha Mitchell Sci. Soc. Jour.,** 61: 74-113.

——— and **COGHILL, R. D.** 1943. «Home-made» penicillin. **Amer. Med. Assoc. Jour.,** 123: 1,135.

——— and **FENNELL, D. I.** 1946. The production of penicillin x in submerged culture. **Jour Bact.,** 52: 761-777.

——— and **THOM, C. 1949.** A Manual of the Penicillia, pp. 875. Williams and Wilkins Co., Baltimore, Md.

REID, R. D. 1933. A study of the bactericidal, bacteriolytic, or inhibitory substance produced by some moulds and some factors which influence its production. **Jour. Bact.,** 25: 31.

RICKES, E. L., BRINK, N. G., KONIUSZY, F. R., WOOD, T. R., and **FOLKERS, K.** 1948a. Vitamin B_{12}, a cobalt complex. **Science,** 108: 134.

——— 1948b. Crystalline vitamin B_{12}. **Science,** 107-396-397.

——— 1948c. Comparative data on vitamin B_{12} from liver and a new source, Streptomyces griseus. **Science,** 108: 634-635.

ROMANSKY, M. J. and **RITTMAN, G. E.** 1944. A method of prolonging the action of penicillin. **Science,** 100: 197-198.

SAVAGE, George M. 1949. Improvement in streptomycin-producing strains of Streptomyces griseus by ultraviolet and X-ray energy. **Jour. of Bact.,** 57: 429-441.

SCHATZ, A., BUGIE, E., and **WAKSMAN, S. A.** 1944. Streptomycin, a substance exhibiting antibiotic activity against gram-positive and gram-negative bacteria. **Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.,** 55: 66-69.

SHOPE, Richard E. 1948. The therapeutic activity of a substance from Penicillium funiculosum Thom against swine influenza virus infection of mice. **Abstract in Am. Jour. of Bot.,** 35: 803.

SHORB, Mary S. 1947. Unidentified growth factors for Lactobacillus lactis in refined liver extracts. **J. Biol. Chem.,** 169: 455-456.

SMADEL, J. E. and **JACKSON, E. B.** 1947. Chloromycetin, an antibiotic with chemotherapeutic activity in experimental rickettsial and viral infections. **Science,** 106: 418-419.

SMITH, R. M., JOSLYN, D. A., GRUHZIT, O. M., McLEAN, W. Jr., PENNER, M. A., and **EHRLICH, J.** 1948. Chloromycetin: biological studies. **Jour. of Bact.,** 55: 425-448.

SOBIN, B. A., FINLAY, A. C., and KANE, J. H. 1950. Terramycin and its production. U. S. Patent No. 2,516,080. Issued July 18.

SPINK, Wesley W. 1951. Clinical and biologic significance of penicillin-resistant staphylococci, including observations with streptomycin, aureomycin, chloramphenicol, and terramycin. **Jour. of Lab. and Clin. Med.**, 37: 278-293.

STANSLY, P. G., SHEPHERD, R. G., and WHITE, H. J. 1947. Polymyxin, a new chemotherapeutic agent. **Bull. Johns Hopkins Hosp.**, 81: 43-55.

STERN, J. R. and McGINNIS, J. 1950. Antibiotics and early growth of rats fed a soybean oil meal diet. **Archives of Biochem.**, 28: 364-370.

STODOLA, F. H., SHOTWELL, O. L., BORUD, A. M., BENEDICT, R. G., and RILEY, A. C., Jr. 1951. Hydroxystreptomycin, a new antibiotic from Streptomyces griseocarneus. **Jour. of Amer. Chem. Soc.**, 73: 2,290-2,293.

STOKSTAD, E. L. R. and JUKES, T. H. 1950. Further observations on the animal protein factor. **Proc. Soc. Exper. Biol. Med.**, 73: 523.

——— JUKES, T. H., PIERCE, J. V., PAGE, A. C., Jr., and FRANKLIN, A. L. 1949. The multiple factor of the animal protein nature. **J. Biol. Chem.**, 180: 647-654.

——— JUKES, T. H., PIERCE, J. V., PAGE, A. C., Jr., and FRANKLIN, A. L. 1949. The multiple factor of the animal protein nature. **J. Biol. Chem.**, 180: 647-654.

STRAUSS, M. B., TAYLOR, F. H. L., and CASTLE, W. B. 1931. Intramuscular use of liver extract: maximal responses of reticulocytes from daily intramuscular injection of extract derived from ten grams of liver. Preliminary Communication. **J. A. M. A.**, 97: 313.

WAKSMAN, S. A., and HARRIS, D. A. 1949. Streptomycin-producing capacity of different strains of Streptomyces griseus. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, 71: 232-235.

——— and LECHEVALIER, H. A. 1949. Neomycin, a new antibiotic active against streptomycin-resistant bacteria, including tuberculosis organisms. **Science**, 109: 305-307.

——— and WOODRUFF, H. B. 1940. Bacteriostatic and bactericidal substances produced by a soil actinomyces. **Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.**, 45: 609-614.

——— WOODRUFF, J. B., and HORNING, E. S. 1941. The distribution of antagonistic properties among Actinomycetes. **J. Bact.**, 42: 816.

WEINDLING, R. 1934. Studies on a lethal principle effective in the parasitic action of Trichoderma lignorum on Rhizoctonia solani and other soil fungi. **Phytopath.,** 31: 1,153-1,179.

——— and EMERSON, O. H. 1936. The isolation of a toxic substance from the culture filtrate of Trichoderma. **Phytopath.,** 26: 1,068-1,070.

WELCH, Henry. 1950. Adsorption, excretion and distribution of terramycin. **Ann. N. Y. Acad. Sci.,** 53: 253-265.

WINN, Thomas J. 1950. Increased prescription business due to antibiotics. **Am. Professional Pharmacist,** 16: 981-986.

INSTITUTO "JAIME FERRAN", DE MICROBIOLOGIA
C. S. I. C.

EMPLEO DE LOS MEDIOS SINTETICOS DE WICKERHAM EN LOS ESTUDIOS SOBRE NUTRICION DE LOS MICRO-ORGANISMOS

por

Juan Santa María Ledochowski.

Como consecuencia de los estudios realizados por el Dr. L. J. Wickerham, del Northern Regional Research Laboratory, sobre la asimilación de nitrógeno y carbono por las levaduras, desde el punto de vista de la sistemática de las mismas (39, 40), la casa Difco ha preparado unos medios sintéticos que fueron remitidos directamente por dicha Sociedad a mi inolvidable maestro el Profesor Marcilla, quien días antes de su fallecimiento me los entregó al objeto de probar las posibilidades de dichos medios, tanto en los estudios sobre nutrición de levaduras como de bacterias, extremo apuntado por el propio Wickerham (40).

Los microorganismos elegidos para este trabajo han sido: Torulopsis utilis, Candida pulcherrima y Bacillus macerans.

METODOS

Los medios de Wickerham empleados fueron: 1.º Un agar sintético, cuya composición no se detalla en la nota enviada por la casa Difco; sin embargo, de las publicaciones de Wickerham (39, 40) puede deducirse que es la siguiente: Como fuente de carbono, glucosa al 1 por 100; como fuente de nitrógeno, sulfato amónico al 0,5 por 100; vitaminas en γ por 1.000 c. c. de solución: biotina... 2, pantotenato cálcico... 400, inositol..., 2.000, niacina... 400, ácido p-aminobenzoico... 200, clorhidrato de piridoxina... 400, tiamina... 400, riboflavina... 200. Según las instrucciones, para preparar este medio se rehidrata suspendiendo 3,5 gr. del producto, que viene en forma de polvo, en

(*) Trabajo presentado en la sesión celebrada en Madrid por la Sociedad de Microbiólogos Españoles el día 18 de febrero de 1952.

100 c. c. de agua destilada, se calienta a ebullición (nosotros a bañomaría) para disolver completamente y se esteriliza quince minutos a 121° C. (nosotros veinte minutos a 115°). A este medio le designamos a lo largo de la publicación como medio W. 2.° Medio exento de vitaminas: sólo difiere del anterior, como su nombre indica, en la ausencia total de vitaminas y en que no viene preparado con agar, o sea que está previsto para utilizarlo sólo como medio líquido. Según las instrucciones, para usarlo hay que disolver 1,67 gr. en 100 c. c., pero recomiendan esterilizarlo por filtración en concentración 10 x. Según nuestra experiencia, no se encuentra diferencia entre la filtración aséptica y la esterilización de veinte minutos a 115°, por lo que regularmente se empleó esta última. Además, como se encontró que era deseable disponer de este medio en forma sólida, se le añadía agar en la proporción de 1,7 por 100; el agar se lavaba previamente durante siete días seguidos con agua destilada, manteniendo en frigorífica y cambiando diariamente el agua. También parece que puede afirmarse de los resultados de este trabajo que se obtenía un medio sólido, exento de vitaminas. A este medio le designamos a lo largo de la publicación como medio W4.

Otros medios usados eran: agar malta, preparado según Bernhauer (2); agar maíz, preparado según Smith (34), empleando 48 gr. de maíz en lugar de 60; agar patata, preparado según Diddens y Lodder (5); agar grama (26); una modificación del agar Sabouraud, según Punkari y Henrici (21), formado por 5 por 100 de glucosa, 1 por 100 de peptona Merck y 1,5 por 100 de agar y agar carne, preparado por infusión en caliente.

Las siembras en que se partía de estrías en medio sólido se hacían siempre, de no indicar lo contrario, diluyendo parte del material microbiano en agua estéril, de modo que se lograsen diluciones poco concentradas; para pasar a otra estría se sembraba de esta dilución con aguja, y para pasar a medio líquido con asa. Cuando se partía de medio líquido se sembraba directamente sin nueva dilución y también con aguja para las estrías y con asa para los medios líquidos.

El juicio sobre desarrollo en medio sólido se limitaba a apreciar visualmente la estría. En medio líquido la comparación se hacía siguiendo la sencilla técnica de Wickerham (40), que consiste en colocar los tubos delante de una cartulina blanca en la que se han hecho una serie de líneas con tinta china, de medio milímetro de anchas y a 7,5 cm. de distancia; según como se ven las líneas a través de los tubos, se puede comparar groseramente la opacidad producida por el desarrollo (fig. 24).

La tempeatura de incubación era de 30° para Torulopsis utilis, de 22 o de 30°, según los casos, para Candida pulcherrima y de 37° para Bacillus macerans.

El tiempo de incubación variaba según la experiencia, pero para dar un resultado negativo se esperaban por lo menos doce días.

El número de pases que se daba en un medio era por lo menos de tres, a partir del medio stock, antes de pretender comparar resultados.

RESULTADOS

Torulopsis utilis.

Se empleó la Torulopsis utilis var. major (Thaysen, 38), que nos fué remitida directamente hace algunos años por dicho Profesor.

De estría en agar de malta, se sembraba en estrías de W, W4 y malta; a las cuarenta y ocho horas, buen desarrollo en las tres. La estría en W4 se podía resembrar indefinidamente en el mismo medio, acusando la observación microscópica formas y tamaños característicos de las células de esta variedad (figura 25).

Partiendo también de estría en agar malta, se sembraba en W4 líquido. A las veinticuatro horas, bastante turbia. Se dieron seis nuevos pases en el mismo medio, haciendo las resiembras a las veinticuatro horas, y el desarrollo era bueno. Aspecto microscópico de las células, normal; el pH del medio en el último pase, a las veinticuatro horas de sembrado, estaba comprendido entre 2 y 3 (papel Merck).

Se ve, pues, que el desarrollo de la T. utilis var. major era bueno en el medio Wickerham exento de vitaminas.

Candida pulcherrima.

Hace varios años aislamos de una naranja una levadura anascosporígena, que comprobamos era capaz, en hidrolizados de ciertos productos, de asimilar más substancias reductoras que la Torulopsis utilis var. major de Thaysen, aunque su velocidad de multiplicación era menor (27). Además del interés que, dadas sus posibles aplicaciones en la producción de levaduras alimento, pueda tener esta variedad, otras particularidades contribuían a aumentar el interés del estudio de sus exigencias nutritivas.

Desde su aislamiento, y durante los varios años que experimentamos con esta variedad en estudios de multiplicación, sin preocuparnos de su clasificación, sus características no indicaban razón alguna para incluirla en las Micoturuloideas y, por tanto, en nuestra colección la teníamos referenciada como Tl entre las torulas. Sin embargo, cuando años después de su aislamiento Marcilla y Feduchy iniciaron los estudios de clasificación de este levadura, la clasificaron «provisionalmente» como Candida pulcherrima var. liquefaciens nov. var. (8).

Dado, pues, que se trataba de la C. pulcherrima, era interesante, como afirmamos anteriormente, el estudio, desde un punto de vista nutritivo, de sus peculiaridades: formación de pigmento, formación de pseudomicelio, tendencia a la variación, etc.

Al objeto de abreviar, designaremos de modo similar a lo que hacemos en nuestra colección a lo largo de esta publicación, como Tl a la Candida pulcherrima var. liquefaciens nov. var., descendiente directa por pases sucesivos en agar de malta de nuestro aislamiento original (figura 1).

Exigencias nutritivas.—A partir de estría en agar de malta se siembra en W4. A las veinticuatro horas no se observa desarrollo; a los doce días, tampoco. Se repite otras tres veces la siembra desde agar malta, con el mismo resultado. Se hace nueva siembra, pero pasando directamente de la estría, de modo que con el asa se arrastraba gran cantidad de material celular a un tubo de W4 líquido; a las veinticuatro horas y a los cinco días se homogeneizaba este tubo y se resembraba en otros del mismo medio con asa; estos tubos no mostraban desarrollo visible en doce días de incubación. Del tubo que se había inoculado abundantemente, a los siete días se sembraba en estría W4 y en zig-zag en placas W4, W y patata; se sembraba también como control de agar malta en estría W4. A los ocho días, las dos estrías de W4 dan, a lo largo de la siembra, una línea fina (fig. 26) de color rojizo por la parte superior; a los diecisiete días, la placa W4, lo mismo, y la placa W, colonias grandes, normales, rosas por la parte inferior, y la placa de patata, colonias, también normales, un poco más pequeñas que en W y de olor blanco.

La observación microscópica hacía aún más profunda esta diferencia del desarrollo de las colonias, pues tanto la placa de agar W como la de patata daban células normales mientras que las que provenían de las estrías W4 y de la placa del mismo medio daban exclusivamente células redondas del tipo «pulcherrima» (6) (fig. 2-7). Resembrando de cualquiera de estas estrías W4, en

el mismo medio y en estrías en malta y en W, previa dilución en agua y empleando la misma aguja, para que la siembra fuese lo más similar posible, siempre se obtenía en W y en malta desarrollo de morfología normal y en W4 tipo «pulcherrima».

Parecía, pues, demostrarse: 1) Que la forma «pulcherrima» estaba determinada por la carencia de vitaminas del medio, ya que en W la forma era la normal. 2) Que la forma «pulcherrima» se «perdía» en cultivo joven, es decir, se volvía a la morfología normal en cuanto se pasaba a medio con vitaminas, patata o malta. 3) Que en medio W4, aunque existe desarrollo, es tan limitado y lento que no da lugar a poder ser apreciado visualmente en medio líquido ni después de doce días de incubación.

Indicaremos que, aunque por el momento no se ha pretendido comprobar la formación de esporas en esta especie, según afirma Windisch (41, 42), sí se han observado restos de membrana unidos a células del tipo «pulcherrima» (figs. 5 y 6), y además una forma extraña de «germinación» de alguna de estas células; obsérvese también una célula que parece iniciar la división emigrando la gota de grasa a un extremo.

Visto que el medio W4 es inadecuado para el normal desarrollo de Tl, se ensayó por el método auxanográfico de Beijerinck las vitaminas B_1, B_6, inositol y biotina en dicho medio. A los dos días, a 30°, la placa daba fuerte reacción positiva para la biotina y negativa para las otras tres.

En vista de ello, se prepara W4 líquido, con agua bidestilada, con las siguientes concentraciones de biotina por 1.000 c. c.: 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625; 7,1825; 3,90625 y 0 γ de biotina. Se entubaba en proporción de 6 c. c. por tubo. Se siembra partiendo de estría en agar malta, en cada una de estas diluciones, incubando a 30°; la gota del asa equivalía a 1,2 mgr. A las treinta y nueve horas, abundante opacidad en todos los tubos, menos en el que no tiene biotina. Comparando con la cartulina, el desarrollo era prácticamente el mismo en todos, excepto en el de 500 γ, que era menor; se deja cincuenta y siete horas más en estufa, en cuyo momento la opacidad es igual en todos, menos en el que no tiene biotina, que sigue sin desarrollo. Del tubo de conc. 3,90625 γ de biotina × 1.000 c. c. se siembra nuevamente en todas las concentraciones; este tubo tenía en el momento de efectuar las siembras un pH de 3,1 (potenciómetro) y una concentración de 52×10^6 células por centímetro cúbico. A los dos días, todos los tubos de biotina abundante desarrollo, ligeramente inferior el de 500 γ; el que no tiene biotina, sin desarrollo. Se dejan dos días más en estufa y se observa que al cabo de este tiempo todos

los tubos con biotina tienen anillo, desarrollo superficial y depósito; en alguno de ellos se aprecia que sin agitar sube de tarde en tarde una burbuja pequeña a la superficie; la observación microscópica no acusa diferencia con las diferentes concentraciones de biotina. El tubo sin biotina sigue sin desarrollo.

Se repitió de nuevo cinco veces la siembra, partiendo siempre de la menor concentración de biotina y en todos los casos se obtuvo excelente desarrollo en todos los tubos con biotina y nulo en el que no tenía. A los once días de iniciada la experiencia se observó que los tres primeros tubos de W4 sin biotina, que se han mantenido todo el tiempo en la estufa, tenían un ligero depósito pulverulento, que se comprobó estaba formado por células «pulcherrima».

Este resultado confirma que: 1) la biotina es imprescindible para un desarrollo normal y rápido de Tl; 2) en medio inorgánico sin biotina hay un ligerísimo desarrollo, que no se aprecia por la opacidad del líquido y en el cual las células son exclusivamente del tipo «pulcherrima».

Se preparan nuevas diluciones de biotina en W4 líquido, en las siguientes concentraciones de biotina por 1.000 c. c. de medio: 5; 2,5; 1,25; 0,625; 0,3125; 0,15625; 0,078125 y 0 γ. En esta serie se obtiene el mismo resultado que en la anterior, es decir, que con todas las concentraciones de biotina hay buen desarrollo en ocho pases sucesivos, partiendo siempre de la concentración menor; únicamente observaremos que el desarrollo era más lento con la menor concentración, pues a los cuarenta y ocho horas la opacidad era menor, aunque a las setenta y dos se había igualado, en cuyo momento el pH de todos los tubos era prácticamente el mismo: 3 (papel Merck). En todos los tubos que no tenían biotina igual resultado que en experiencia anterior.

Vemos, pues, que completando el medio Wickerham exento de vitaminas, exclusivamente con 0,078125 γ de biotina por 1.000 c. c., concentración que es 25,6 veces menor de la del medio Wickerham completo, se obtiene desarrollo normal de Tl; no se insistió buscando dosis mínimas.

Se preparan tubos W4 líquido con 5 γ de biotina por 1.000 c. c., con tubitos Durham, y como control medio Wickerham completo sin fuente de carbono, al que se añadía 1 por 100 de glucosa. En ambos casos, a los cuarenta y ocho horas, otras veces a las setenta y dos, se recoge gas en el tubito Durham, siempre más en el control.

Se ensaya la sustitución de la biotina por la asparraguina o por el ácido L-aspártico. Para ello se preparan tubos de W4 con conc. de 0,2; 0,1 y 0,05 por 100 de ácido L-aspártico y otros con las mismas concentraciones de asparraguina. La primera siembra en esta serie se hace partiendo de un W4 con

3,90625 γ de biotina por 1.000 c. c. Ya en el primer pase se obtuvo en la serie con ácido aspártico bastante buen desarrollo, con descenso del pH a 3 (papel) en el de 0,2 por 100, mientras que en la de asparraguina era muy pequeño en los de conc. 0,05 y 0,1 por 100, y prácticamente nulo en el de 0,2; el descenso del pH en el de máximo desarrollo (0,05 por 100) era sólo a 5 (papel). En el segundo pase, sembrando cada serie con el de menor concentración de la anterior, no se obtuvo desarrollo en los tubos de asparraguina y satisfactorio, máximo 0,2 por 100, con el ácido L-aspártico.

Se ve, pues, la posibilidad de sustituir totalmente la biotina por el ácido L-aspártico, pero no por la asparraguina.

Vista la diferencia entre las células normales y las «pulcherrima» en lo referente a nutrición, se prueba su comportamiento en relación con el O_2; para ello se siembran las dos formas en dispersión en tubo de agar profundo de W y W4, respectivamente. A los seis días el tubo W daba abundante desarrollo, fuertemente aerobio; únicamente había colonias en la capa superior, que tiene intenso color rosado. En el de W4, que tiene unos 8,5 cm. de altura de agar, en el 1,5 cm. más elevado hay abundantes colonias, pequeñas, incoloras; en los 7 cm. más profundos no se ve ninguna, y en la superficie propiamente dicha tampoco. Observaremos que, a los veinte días de sembrado, la parte superior de la columna de agar en el tubo W4 se ha encogido un poco, separándose de la pared en un sector de unos 180°; las colonias que están en esa posición, y por tanto en contacto con la atmósfera, tienen color rojizo; también se observan colonias blancas hasta 2,5 cm. de profundidad, seguramente por su mayor proximidad al aire. Siembras de «pulcherrima» en estría aerobia, estría anaerobia y picadura en agar W4 da el desarrollo más rápido para la picadura, bastante más lento para la estría aerobia y nulo para la anaerobia.

Vemos, pues, que otra diferencia entre las formas normal y «pulcherrima» es que la primera es aerobia y la segunda microaerófila.

Como resumen podemos decir que la Candida pulcherrima var. liquefaciens no se desarrolla normalmente en medio inorgánico con glucosa como fuente de carbono; en este medio el desarrollo es muy lento y limitado, y se hace exclusivamente a base de células del tipo «pulcherrima», que, además de la forma y de la falta de exigencia de factores de crecimiento, se diferencian de las normales por ser microaerófilas. Es preciso añadir a ese medio biotina (una concentración de 0.078125 γ × l. es suficiente), que puede ser sustituída por el ácido L-aspártico y no por asparraguina, para lograr

un desarrollo normal; en dicho medio la glucosa es atacada con desprendimiento de gas.

Formación de pigmento.—Esta variedad de C. pulcherrima ha sido cultivada desde su aislamiento prácticamente sólo en agar malta o en diversos medios líquidos para su multiplicación, en los que tiene color crema. La primera vez que observamos la formación de pigmento fué en el agar W; en estría en este medio el desarrollo presentaba, por la parte superior, un color crema ligeramente rosado, que es mucho más intenso por la parte inferior, donde se observa difundido por el agar. En maíz y patata, de igual modo que en malta, no forma pigmento y si se siembra de una estría pigmentada en W en maíz, patata o malta, el pigmento no se forma. Parece, pues, debido a una propiedad intrínseca del medio de cultivo.

También forma pigmento en gelatina de malta y de carne; en gelatina al agua no. Esta variedad de C. pulcherrima es una de las que tienen la propiedad de liquidar la gelatina (8); liquida tanto la de malta y la de carne, como la gelatina al agua (figs. 8-10). En gelatina de malta forma un pigmento rojizo y en la de carne amarillo.

En vista de ello se probó la influencia del hierro. Se preparó un agar de malta con 40 mgr. de citrato férrico por 100 c. c. (1). A los cinco días, la estría presenta un color rojizo sangre muy oscuro por la parte superior e inferior; el hierro es, pues, factor decisivo en la formación de un pigmento.

Sin embargo, no es el único factor, o tal vez son diversos los pigmentos. En efecto, se preparó a base del medio W4 un agar, al que se añadió 1 γ de biotina por 1.000 gr.; a este medio se le designa como W4B. A partir de malta se siembran estrías en W, W4B y W4. A los tres días, como era de esperar, había buen desarrollo en W y en W4B, y en W4 una serie de puntitos casi invisibles a lo largo de la línea de siembra; la estría en W tenía color rosado por la parte inferior, la de W4B no. A los once días W seguía rosa por abajo, con el pigmento difundido en el agar, W4B crema por ambas caras de la estría y W4 había desarrollado, como de costumbre, una línea muy fina y de escaso desarrollo, de color ladrillo, por la parte superior (fig. 26). Resembrando en los mismos medios a partir de W4 los resultados eran idénticos.

Vemos, pues, que en células normales el pigmento se forma en W, pero no en W4B, y la diferencia entre los dos medios estriba exclusivamente en el complejo vitamínico, pues no es de suponer influencia perniciosa del agar que se emplea en la confección del medio W4B, después de lavados tan persis-

tentes. Por el contrario, las «pulcherrima» forman un pigmento de otro tono, sin necesidad de factores de crecimiento.

Se comprobó que añadiendo al medio W4B aneurina, clorhidrato de piridoxina, inositol, ác. p-aminobenzoico y metionina aisladamente, no se formaba el pigmento; del mismo modo no influían las combiaciones aneurina + inositol, piridoxina + inositol, ácido p-aminobenzoico + inositol y metionina + ácido p-aminobenzoico.

Un factor en la formación de pigmento, tanto en W como en W4, es la presencia de aire, pues, por ejemplo, una estría anaerobia de W sembrada con exceso directamente a partir de estría de malta, permaneció mes y medio en anaerobiosis; la estría tenía entonces muy poco desarrollo, y era blanca; se dejó entonces en contacto con el aire, y a los tres días apareció el color rosa. A su vez, picaduras en agar W daban desarrollo total a lo largo de la picadura, pero color sólo en el crecimiento superficial. Lo mismo es válido para el pigmento formado por las «pulcherrima».

Dada la diferencia observada en la aparente difusión del pigmento, se sembró a partir de una suspensión muy espesa sobre tiras de papel celofán en placas de agar W, malta + hierro y W4, comprobando que únicamente en el primer medio difundía el pigmento a través del celofán, que al ser levantado con unas pinzas dejaba ver marcada en la superficie del agar la silueta del desarrollo. Además, el pigmento de las «pulcherrima» tardaba en aparecer unos nueve días, mientras que en las normales era paralelo al desarrollo.

Otra diferencia es que en W y en malta + hierro el pigmento conserva su color hasta siete meses, mientras que en W4 quince días después de formado el tono rojizo pasa a pardo. También observamos que en W el pigmento no se forma si la temperatura de esterilización llega a 130°.

Podemos, pues, resumir diciendo que las células normales forman dos clases de pigmentos: 1) Un pigmento rosa, que difunde a través del papel de celofán en el agar, siendo imprescindible para su formación una o más vitaminas no determinadas, que no son la biotina en proporción de 1 γ × 1.000 c. c. ni la biotina en dicha proporción más aneurina, o piridoxina, o inositol, o ácido p-aminobenzoico, o metionina, o aneurina más inositol, o piridoxina más inositol, o ácido p-aminobenzoico más inositol, o metionina más ácido p-aminobenzoico. 2) Un pigmento rojo oscuro, que exige la presencia de hierro y que no es difusible a través del papel de celofán. A su vez, las células «pulcherrima» forman un tercer pigmento rojo ladrillo, que no exige, por tanto, la presencia de vitaminas y que no es difusible a través del papel de celofán, tarda nueve

días en desarrollarse y que con el tiempo pasa a pardo. Los tres pigmentos se forman únicamente en presencia de aire.

Formación de pseudomicelio.—Para ver la posible influencia de la composición del medio en la formación de pseudomicelio, lo primero era elegir una técnica de observación adecuada. Anteriormente hemos hecho referencia a que durante los años que hemos utilizado eta levadura en experiencias de tipo industrial nunca habíamos encontrado indicios de que fuese una C a n d i d a. En una publicación anterior (26) afirmábamos que en el agar de grama, con la técnica de Dalmáu, se observaba «fácilmente un abundante pseudomicelio»; sin embargo, esta observación, que entonces fué hecha por indicación del Profesor Marcilla, no se pudo nunca comprobar posteriormente, e indicios difíciles de confirmar y que no precisan ser aquí expuestos parecen ser suficientes a atribuir a una confusión aquella observación, que aquí dejamos rectificada.

Las técnicas ensayadas para comprobar la formación de pseudomicelio fueron: la de Rivalier y Seydel (23), empleando en lugar de agua una solución de glicerina al 20 por 100 en agua para mantener la humedad de la caja; la de Dalmáu (37), la de Fleming y Smith (11), el método recomendado por Skinner (31) de sembrar rascando en placas de agar y la observación de colonias profundas (32). La picadura en gelatina (30) no puede ensayarse por liquidar esta variedad la gelatina; en su lugar se hicieron picaduras en agar, y en este caso la observación era tanto macroscópica como microscópica, después de sacar los cilindros de agar del tubo. Estas técnicas se ensayaron con agar de maíz, malta, patata, grama y Sabouraud.

Por ninguno de estos métodos empleados con cada uno de los medios se pudo observar la formación de pseudomicelio. En algún caso, por ejemplo, en gelatina de malta, la forma de las células era más alargada de lo usual; en otros casos, por ejemplo en patata, a los tres meses, los bordes de una estría presentaban aspecto rizoide con células alargadas, mientras que las del centro eran normales, con abundante número de «pulcherrimas»; si se pretendía con siembra de los bordes de esta estría favorecer la formación de micelio con las técnicas antedichas, el resultado era negativo.

Para comprobar los métodos, se sembraba siempre un testigo, que era una C a n d i d a sin clasificar, que en nuestra colección figura como C2 y forma abundante y verdadero micelio (figs. 11-14).

No se pudo confirmar la afirmación de Windisch (41) de que al cabo de varios meses hay formación de pseudomicelio, pues estrías en agar Sabouraud

de ocho meses, en las que si el agar estaba fuertemente encogido la estría se mantenía todavía suficientemente fresca, daban exclusivamente formas aisladas, sin observar nada que recordase a pseudomicelio.

En resumen, podemos afirmar que después de una cuidadosa y persistente observación durante más de doce meses no ha sido posible en ningún caso comprobar la formación de pseudomicelio en el cultivo de C. pulcherrima descendiente directo del original.

Variación.—Al objeto de obtener variantes de nuestro cultivo, que o bien fuesen formadoras de pseudomicelio, o bien tuvieran otra peculiaridad digna de estudio desde el punto de vista de influencia del medio, se efectuaron las siguientes experiencias:

1) Variación inducida:

a) Agentes químicos: acción del cloruro de litio.—Al medio W4 se le añade 1 γ de biotina × 1.000 c. c. y 0,25 por 100 de LiCl. El desarrollo en este medio era sensible, pero bastante menor, comparado por opacidad, que en un testigo sin LiCl; a los siete días el pH estaba comprendido entre 5 y 6, mientras que en el testigo era de, aproximadamente, 3. Se observaban muchas células normales y «pulcherrima», y varias anormales. Se resembró en el mismo medio, y a los veintiún días había ligero desarrollo superficial, en cuya observación microscópica se podían distinguir células normales, alargadas, anormales y otras que semejan haber desarrollado un largo tubo de germinación (fig. 5). De la superficie se sembró en estría agar malta, y desde el principio el desarrollo fué normal, sin modificaciones morfológicas de ninguna clase. Se repitió varias veces la experiencia, siempre con el mismo resultado.

Se ve que con el LiCl no se obtienen mutaciones.

b) Agentes físicos: acción de la radiación ultravioleta.—Se ha empleado como fuente de radiación ultravioleta una lámpara Necron de 15 w. que, según datos suministrados por la casa constructora, emite exclusivamente en la longitud de onda de 2.650 A.

Se hacían suspensiones arbitrarias partiendo de estrías en agar de malta, pero manipulando siempre igual, de modo que, dentro de los límites que pueden interesar en esta experiencia, las concentraciones eran siempre las mismas, aproximadamente.

Después de varios tanteos se observó que si una suspensión en caja de Petri sin tapa se somete, a una distancia de 40 cms., a la acción de la lámpara durante cinco minutos, la acción es mortal. Por el contrario, si a la misma

distancia los tiempos de exposición son de uno, dos y tres minutos, no hay ninguna acción aparente en varias generaciones, ya que en agar Sabouraud, W, W4 y malta más hierro la velocidad y cuantía del desarrollo, aspecto macroscópico de las estrías, morfología de las células y formación del pigmento, eran normales.

Con un tiempo de irradiación de cuatro minutos la siembra en agar de malta más hierro permanecía blanca durante once días, al cabo de los cuales empezaba a formar el color rojo oscuro por la parte superior, aunque menos intenso que de costumbre, mientras que el testigo formaba el pigmento desde el principio del desarrollo, como es usual; no se observaba ninguna otra anormalidad. Resembrando de esta estría en otra de malta más hierro, el pigmento se formaba desde el primer momento. Se repetía en un cultivo irradiado el tratamiento en las mismas condiciones; el resultado era prácticamente el mismo, con la única diferencia que el color blanco permanecía en la primera siembra en malta más hierro por lo menos durante cincuenta y tres días, sin que el el momento de dar por terminada la experiencia se inicie la formación de pigmento, pero también en este caso la resiembra en el mismo medio es normal.

Vemos, por tanto, que parece deducirse que la irradiación con luz de 2.650 Å sólo afecta al pigmento que se forma por la influencia del hierro, pero sólo en los cultivos que proceden directamente de la dilución irradiada, pues las primeras resiembras dan la formación normal, aunque sí parece que la primera acción se acumula en irradiaciones sucesivas.

2) Variación natural:

Se hicieron colonias gigantes en frascos Roux de 250 c. c., en agar de los siguientes medios: malta, grama, Sabouraud, maíz, W y patata.

En los tres primeros no se observó ninguna particularidad en colonias de siete meses (fig. 16), como es natural, dada la composición de los medios, se tenía más desarrollo en el agar Sabouraud. No se notaban zonas de color o aspecto distinto; la observación microscópica y las siembras de los bordes y de diversas zonas de la colonia fueron totalmente normales.

En W y maíz había, además de la colonia superficial, otra sumergida (figura 17), que era como una especie de proyección de la superficial, aunque estaba desplazada y tenía el borde como una tira estecha de tela fruncida; además, en W la colonia sumergida era de color rosa. Sin embargo, ni de las colonias superficiales ni de las sumergidas se observaron formas o se obtuvieron cultivos que no fuesen normales.

En patata, a los tres meses, se había desarrollado una colonia blanca con dos lóbulos pequeños, radiales, de color rojo ladrillo, cerca del borde (figura 18). A los cinco meses los dos lóbulos siguen muy marcados y han quedado como englobados dentro de la colonia, pero los bordes están muy hundidos en su proximidad; casi todo el borde tiene un color rojizo como los lóbulos. Se hacen preparaciones de uno de los lóbulos (lóbulo 1) y de varios puntos de los bordes y de la colonia, y no se observa nada anormal, pero el otro lóbulo (lóbulo 2) da forma más alargadas de lo normal.

Se siembra de los dos lóbulos y de los bordes en estrías agar patata; las dos estrías de los lóbulos no dan el color rosa característico del agar W, pero se observa que a lo largo de la estría, sobre todo en la parte inferior, ha difundido en el agar pigmento rosa; las estrías de los bordes han desarrollado algunas en forma de colonias aisladas, parte de las cuales son rosa por la parte inferior.

De la estría del lóbulo 2, que es la única que sigue dando formas alargadas, se hace aislamiento en agar patata. Las colonias que se desarrollan en la placa están en una zona en los bordes de la cual ha difundido pigmento rosa de modo continuo; parece que el pigmento formado debajo de las colonias de los bordes se ha unido, formando como una aureola común. De una de estas colonias, que sigue dando formas alargadas, se siembra en agar patata. Como el desarrollo de esta estría sigue dando formas que se distinguen de las normales (figs. 19 y 20), en adelante se designa a esta variante obtenida de nuestra primitiva C. pulcherrima var. liquefaciens, como TICL2, mientras que al cultivo original le seguiremos llamando TI.

Esta estría en patata de TICL2 no forma pigmento, al contrario del lóbulo original y de la colonia de aislamiento de que procede. También notaremos que en este medio, es decir, en agar patata, la consistencia de la estría de TICL2 es dura y fragmentable en trozos, al contrario de la cremosa característica de TI.

Aplicando la técnica de Rivalier-Seydel se comprobó fácilmente que TICL2 forma pseudomicelio en agar patata, al contrario de TI (figs. 21 y 22).

En lo referente a exigencias nutritivas, TICL2 presenta la misma exigencia específica para la biotina (fig 23). El desarrollo en el medio W4 era prácticamente nulo en medio líquido (fig. 24), y en estría desarrollaba la misma línea final al cabo de unos nueve días (fig. 27), pero, en cambio, presentan una gran diferencia en la morfología de las células desarrolladas en este agar

W4; mientras que TI forma sus clásicas «pulcherrimas» (fig. 28), TICL2 la hace en diversos tipos, irregulares, más pequeños y de aspecto vario (fig. 29).

Sobre la formación de pigmento ya hemos hecho notar que en patata no persiste; en cambio, uno de los aislamientos de los bordes, que era TI en todas sus características, forma pigmento, muy débil, en agar patata durante varias siembras. Una colonia gigante de TICL2 en agar patata, desde el principio formó color rosa fuerte (fig. 40). En agar W forma el pigmento rosa de TI, pero mucho más intenso, sin que tenga prácticamente influencia la temperatura de esterilización; también es más intenso el pigmento que forma TICL2 en malta más hierro.

Una propiedad común a TI y TICL2 es la liquidación de la gelatina (figuras 30 y 31).

Vemos, pues, que de una colonia gigante de TI en patata se ha aislado una variante que se designa como TICL2, que difiere de TI en: 1) La forma de sus células es más alargada en agar patata. 2) La consistencia de la estría en dicho medio es dura para TICL2 y cremosa en TI. 3) Forma pseudomicelio en agar patata. 4) En agar W4 el desarrollo es tan lento y limitado como TI, pero no forma exclsivamente células «pulcherrima» como TI; y 5) En agar W y en agar malta más hierro forma TICL2 pigmento mucho más intenso que TI, sobre todo en el primero. Por el contrario, TI y TICL2 son idénticas en: 1) sus exigencias nutritivas específicas de biotina, y 2) en su poder de liquidar la gelatina.

Influencia del medio de cultivo sobre C. pulcherrima var. liquefaciens variante TICL2.—1) Morfología: La diferencia en la forma de las células de TI y de TICL2, que era muy marcada en agar patata, se mantiene en W, pero es mucho menos sensible en malta.

Esta influencia de la composición del medio en la morfología se confirmó en dos nuevos medios: uno, que es W4 más 1 γ de biotina por 1.000 grs., que se designa como W4B y se prepara en forma líquida y con agar, y otro, que es W4 más 160 γ de biotina por 1.000 grs. y se llama W4B25. En agar W4B se ven células alargadas, pero muchas ensanchadas de aspecto TI y bastantes cortes y casi redondas; en el mismo medio líquido abundan las formas alargadas en el desarrollo superficial. En agar W4B25 el aspecto es parecido a W4B, pero menos células cortas.

2) Pseudomicelio: En lo que respecta a la formación de pseudomicelio no parece haber diferencia en los distintos medios. Véanse las figuras 32 a 35 y compárense las fotografías de cultivo en portaobjetivos según la técnica de

Rivalier-Seydel sobre agar maíz a los tres días, agar W a los seis y trece días, y agar W4B a los seis días, y obsérvese la abundancia y similitud de desarrollo. No sólo en estos medios, sino que incluso en el medio Wickerham, exento de vitaminas, forma TICL2 pseudomicelio (figs. 36 y 37); en las mismas condiciones, la variante TI forma sus clásicas «pulcherrima» (fig. 7).

De igual modo son apropiadas las diversas técnicas ensayadas para la observación de pseudomicelio (figs. 38 y 39), aunque, desde luego, estimamos superior el método de Rivalier-Seydel, desde el punto de vista de comodidad de observación microscópica.

3) Pigmento: También influye en la formación de pigmento la composición del medio, pues mientras que en W4B prácticamente no se formaba, sí lo hacía bastante intenso en W4B25, aunque menos que en W. Esta diferencia persistía aunque se añadiese a cada medio aneurina en la proporción de 0,5 γ por centímetro cúbico. Apuntaremos que, de modo similar a lo que sucede en patata, si se prepara una placa de aislamiento en agar W4B a partir de estría del mismo medio, sólo con colonias superficiales, se desarrollan muchas rosas por abajo y otras blancas, pero las siembras en estría partiendo de dichas colonias son ambas sin pigmento, no apreciándose tampoco diferencia de otra clase.

Bacillus macerans

Se empleaba un B. macerans procedente de aislamiento propio, y que tenemos referenciado como BA7.

Inicialmente empleamos agar Wickerham exento de vitaminas, al que se añadía: 1) 1 γ de biotina y 500 γ de aneurina por 1.000 c. c. (W4BA); 2) 1 γ de biotina (W4B); 3) 160 γ de biotina y 500 γ de aneurina (W4B25A), y 4) 160 γ de biotina (W4B25). También agar W4 y agar de carne. Temperatura de incubación, 37°.

De un tubo de agua de levadura más 5 por 100 de harina de trigo, sembrado hacía veinticuatro horas, y que estaba en activa fermentación, se sembró con asa en estrías de carne W4BA, W4B, W4B25A, W4B25 y W4. A las veinticuatro horas, en todos resultado positivo; se resiembra en todos los medios, partiendo de W4, previa dilución en agua; también hay desarrollo en todos los medios. Se resiembra en cada medio tres veces consecutivas, siempre con resultado positivo.

Se pasó entonces a sembrar en medio líquido; se eligieron caldo de carne

glucosado, W4, W4B, W4BA y W4 más 500 γ de aneurina por 1.000 centímetros cúbicos (W4A). Sólo había desarrollo en carne.

En vista de ello, se preparan los mismos medios, pero con un 0,7 por 100 de $(NH_4)_2HPO_4$. Se designan como W4f, W4Bf, W4Af y W4BAf. Se siembra en estos medios, partiendo de una estría en W4, que es el cuarto pase de dicho agar, previa dilución en agua. A las veinticuatro horas hay opacidad en todos los medios; se dan cinco pases, siempre con rápido y buen desarrollo, pero al cabo de ellos, al pasar a trigo más levadura, no hay fermentación.

Se vuelve a iniciar nueva serie de siembras, partiendo esta vez de tubo de veinticuatro horas de levadura más trigo, que está en activa fermentación, pero sólo en carne glucosada, W4BAf y W4f. Se dan seis pases seguidos, también con buen desarrollo, pero al resembrar de estos tubos en levadura más trigo sólo hay fermentación en los sembrados en primer pase en W4BAf y W4f.

Parece encontrarse que, mientras en medio sólido es posible el desarrollo en el medio sintético de Wickerham exento de vitaminas, es preciso añadir fosfato diamónico al medio líquido; no parece influir en la cuantía del mismo la biotina y la aneurina, solas o separadas. En el cultivo sucesivo de estos medios líquidos se pierde en el segundo pase la capacidad de fermentación de la harina de trigo.

DISCUSION

En lo referente a *Torulopsis utilis var. major*, los resultados obtenidos eran los que se debían esperar, es decir, que la *T. utilis* no exige ningún factor de crecimiento para su multiplicación, o sea, que es capaz de desarrollarse indefinidamente y partiendo de siembras pequeñas (como en nuestro caso, en que la proporción del líquido de siembra es, aproximadamente, de 1/5.000) en medio inorgánico con un hidrato de carbono como único alimento orgánico, propiedad común a las designadas por Fink como «Wuchshefe» (9, 10).

Por lo que respecta a *Candida pulcherrima var. liquefaciens*, la especificidad encontrada para la biotina no es tampoco rara, pues, a lo que parece, y aunque no hemos podido consultar el original, Schopfer (29) ha tenido el mismo resultado con algunas *Candidas*; dada la pequeña exigencia de vitamina, es evidente la imprescindible necesidad de emplear pequeñas siembras (19), ya que de otro modo se introducen fácilmente con la

misma los factores necesarios; nosotros hemos podido multiplicar esta C. pulcherrima en el siguiente medio: glucosa, 1 por 100; urea, 0,1 por 100; KH_2PO_4, 0,06 por 100, y $MgSO_4$, $7H_2O$, 0,02 por 100, con el consumo total de azúcar, aunque con mal rendimiento en levadura, debido, indudablemente, a que a esta concentración la urea es parcialmente tóxica (39); claro es que empleando una cantidad de levadura siembra de 25 gr. de levadura fresca, que suponía una concentración de 1 por 100 en el volumen inicial o de 0,35 por 100 para el volumen final (28).

Esto también parece demostrar que el medio sintético de Wickerham sin vitaminas está, en efecto, absolutamente exento de ellas, dada la notable diferencia encontrada en cuanto se añade al mismo biotina en la porporción de 0,07 $\gamma \times$ 1.000 c. c.

Respecto a la posibilidad de sustituir la biotina por el ácido L-aspártico, es sabido que Stokes y col. (35, 36) han demostrado que la biotina puede reemplazar al ácido aspártico en el crecimiento de L. arabinosus, Str. faecalis, L. casei y otras bacterias, en la proporción de que 0,009 γ de biotina por 10 c. c. son capaces de sustituir a 1 mgr. de ácido aspártico; en nuestro caso, que es el inverso, la concentración de ácido aspártico tiene que ser mucho mayor, de 5 a 20 mgr. $\times$ 10 c. c., para sustituir a mucha menor cantidad de biotina 0,00078 $\gamma \times$ 10 c. c., aunque verdaderamente no se ha profundizado en el estudio de proporciones óptimas y sólo ha interesado demostrar la posibilidad de sustitución. La asparraguina, por el contrario, no equivale a la biotina en las altas proporciones empleadas, similares a las del ácido L-aspártico.

También es interesante mencionar que, dada la facilidad de obtener células del tipo «pulcherrima» y la existencia entre ellas de elevado número con restos de membrana, la hipótesis de Windisch (41, 42) de formación de ascosporas, puesta en duda por Diddens y Lodder (7) y por Henrici (33), y confirmada, al parecer, por Roberts (24), puede ser comprobada con facilidad.

También parece que puede afirmarse sin lugar a duda que la formación de micelio en C. pulcherrima no depende, como afirma Windisch (41), de la edad a que se observe un cultivo o que sea función de la concentración de O_2, sino que, de acuerdo con Punkari (21, 22) y Porchet (20), depende de la variante de que se trate: la forma R de Punkari o «a» de Porchet, y que nosotros designamos TlCL2, forma pseudomicelio con facilidad, independientemente del medio de cultivo, mientras que la variante S de Punkari o «b» de Porchet, para nosotros Tl, no lo forma.

El empleo de LiCl, que en bacterias (12) y otras Candidas (18) favorece la disociación, no nos dió resultado, pues las formas extrañas obtenidas en medio líquido con LiCl desaparecen al pasar a medio sólido; tampoco el empleo de la luz ultravioleta, tan útil en la obtención de mutantes de bacterias (13), dió resultado positivo.

Sobre la formación de pigmento por esta especie, que ha llamado siempre la atención, por ser la única altamente pigmentada, con pigmento no carotinoide, recordaremos que, según Beijerinck (1), la formación del mismo exige la presencia de O_2 e indicios de Fe, aunque se pueden aislar razas totalmente incoloras; Punkari (21) coincide prácticamente con la opinión de Beijerinck, es decir, que el pigmento puede variar por la composición del medio, debido a causas intrínsecas; para Lodder (16) depende sólo de la presencia de Fe; Porchet (20), por el contrario, cree que es independiente del hierro; Castelli (3), a su vez, opina que el hierro es esencial, y Roberts (25), que dentro de la variación de los distintos aislamientos, en la intensidad del pigmento influye la cantidad total de nutrientes disponibles y exige imprescindiblemente la presencia de O_2, aumenta con el Fe y no es afectado por la luz o la temperatura.

Los resultados obtenidos en esta experiencia establecen la existencia de diversos pigmentos, pues si se añade Fe en la proporción de 40 mgr. de citrato férrico por 100 gr., se formaba un pigmento muy intenso en medios que no lo forman sin Fe añadido, tanto en la variante Tl como en la TlCL2, no siendo difusible por celofán este pigmento. En cambio, en el agar sintético de Wickerham completo forman pigmento difusible por celofán las dos variantes, mucho más intenso TlCL2; dado que en el medio Wickerham exento de vitaminas, más el mínimo imprescindible de biotina, no hay formación de pigmento, parece indudable que los nutrientes, que según Roberts influyen, son las vitaminas, y una de ellas se ha demostrado que es la biotina, ya que, por lo menos con TlCL2, si se incrementa la concentración de biotina hasta 160 $\gamma \times 1.000$ c. c. hay franca formación de pigmento, aunque menos intenso que en el agar completo. Un tercer pigmento es el formado por las células «pulcherrima», que es independiente, por tanto, de la presencia de vitaminas, tarda más tiempo en aparecer y cambia en ocho-diez días de color y no es difusible por celofán.

Por último, notaremos que en patata algunos aislamientos recientes forman pigmento difusible por celofán, que luego lo pierden y que en todos los me-

dios la formación de pigmento es más corriente y fácil en colonia que en estría, ya sean colonias normales o gigantes.

No se ha podido comprobar en un único ensayo la influencia que Cutts y Rainbow (4) han encontrado, que ejerce la metionina en la formación de pigmento por diversas células.

En cuanto al Bacillus macerans, lo primero que observamos es que los medios de Wickerham no se prestan de modo tan conveniente al estudio de sus propiedades nutritivas, como lo son para las levaduras, ya que por lo pronto hay que añadir fosfato amónico en los medios líquidos, pues en su ausencia no hay desarrollo. Los resultados obtenidos han sido extraños, pues por lo menos durante seis pases es capaz de desarrollarse en el medio Wickerham exento de vitaminas más fosfato diamónico, lo que está en contradicción manifiesta con los datos de Katznelson (14) y Knight y Proom (15). Como al mismo tiempo en estas siembras pierde el cultivo, ya en el segundo pase la facultad de fermentar un medio que normalmente fermenta activamente, es prematuro intentar sacar conclusiones de estos datos.

CONCLUSIONES

1.ª De Candida pulcherrima var. liquefaciens se pueden obtener variantes por variación natural, pero no por la acción del LiCL o de la luz ultravioleta.

2.ª Hay variantes de C. pulcherrima var. liquefaciens que forman pseudomicelio y otras que no forman.

3.ª En la formación de pseudomicelio no influye la composición del medio.

4.ª En la morfología sí influye la composición del medio.

5.ª En C. pulcherrima var. liquefaciens se pueden formar tres pigmentos distintos: uno por la acción del Fe, otro por las vitaminas y un tercero independiente, tanto del Fe como de las vitaminas, formado por las células «pulcherrima».

6.ª Así como Torulopsis utilis no exige factores para su desarrollo, Candida pulcherrima var. liquefaciens necesita la presencia de biotina, aunque en su ausencia tiene un desarrollo muy limitado. La biotina puede ser totalmente sustituída por el ácido L-aspártico.

RESUMEN

Se han empleado los medios deshidratados sintéticos de Wickerham en el estudio de las propiedades de diversos microorganismos.

Con la Torulopsis utilis var. major se ha comprobado su capacidad de multiplicarse indefinidamente en medios inorgánicos con un hidrato de carbono, totalmente exentos de vitaminas.

Con la Candida pulcherrima var. liquefaciens, en contra de lo afirmado por nosotros en una publicación anterior, que queda así rectificada, se comprueba que la variante original aislada por nosotros no forma pseudomicelio; de una colonia gigante de esta variante TI se ha aislado otra, que designamos como TICL2, que forma pseudomicelio y en ciertos medios células más alargadas y liquida la gelatina lo mismo que TI; en la formación de pseudomicelio no influye la composición del medio, pero sí en la forma de las células. Ambas variantes exigen para su desarrollo normal en medio inorgánico con un hidrato de carbono la presencia de biotina (0,078 γ × × 1.000 gr. es suficiente), siendo posible sustituir totalmente la biotina por el ácido aspártico, pero no por la asparraguina. En medio totalmente exento de vitaminas, ambas variantes tienen un desarrollo muy lento y limitado, que en la variante TI es a base casi exclusiva de células del tipo «pulcherrima» y en la TICL2 de células de aspecto vario; las «pulcherrima» se ha comprobado que son microaerófilas. En medio inorgánico con glucosa y biotina hay desprendimiento de gas con TI, no habiéndose ensayado con la otra variante. Se ha encontrado que en C. pulcherrima se pueden distinguir varios pigmentos: 1) Uno formado por la influencia del hierro, más intenso que TICL2 y no difusible por celofán; 2) Otro, muchísimo más intenso en TICL2 que en TI, formado en el agar completo de Wickerham, pero no en el exento de vitaminas más biotina en dosis mínimas; este pigmento difunde por celofán. Si se aumenta la dosis de biotina a 160 γ × 1.000 gr., se forma en TICL2, en TI no se ha ensayado, aunque menos intenso que en el medio completo; 3) Uno que forman las células que desarrollan en agar exento totalmente de vitaminas, que no difunde por celofán y que cambia de color con el tiempo. Para estos tres pigmentos es imprescindible la presencia de O_2. No se han podido obtener variantes de C. pulcherrima ni por la acción del LiCl ni por irradiación con luz ultravioleta.

Con el B. macerans no se han podido obtener hasta el momento re-

sultados consistentes, pero en principio puede decirse que así como los medios sintéticos de Wickerham se prestan perfectamente al estudio, tanto de la morfología como de las exigencias nutritivas de las levaduras, son menos apropiados para las bacterias, por lo menos en el género ensayado.

Agradezco a la señorita María del Carmen Días Amado, Auxiliar del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, la eficaz colaboración que me ha prestado en el desarrollo de este trabajo.

BIBLIOGRAFIA

(1) **BEIJERINCK, M. W.**—1918. Levures chromogènes. Nouvelle réaction biologique du fer. **Arch. Néerland d. l'Homme et Animaux.**, 2: 609.

(2) **BERNHAUER, K.**—1939. Gaerungschemisches Praktikum, p. 33. 2.ª ed. J. Springer, Berlin.

(3) **CASTELLI, T.**—1940. Considerazioni sulla Torulopsis pulcherrima. **Arch. Mikrob.**, 11: 126.

(4) **CUTTS, N. S., RAINBOW, C.**—1950. Methionine and the formation of pigment by yeasts. **Nature**, 166: 1.117.

(5) **DIDDENS, H. A., LODDER, J.**—1942. Die Anaskosporogenen Hefen. Zweite Haelfte, p. 67. N. V. Noord-Holl. Uitg. Maatschappij, Amsterdam.

(6) Idem, p. 164.

(7) Idem, p. 166.

(8) **FEDUCHY, E.**—Estudios en desarrollo.

(9) **FINK, H., KREBS, J.**—1938-39. Beitraege zur biologischen Zellsubstanz-Synthese der Hefe. III Mitt. Hefezuechtung in einfachen Kohlenstoffverbindungen. **Biochem. Z.**, 300: 59.

(10) **FINK, H., JUST, F.**—1941. Ueber den Vitamina B_1-Gehalt verschiedener Hefen und seine Beeinflussung. III Mitt. Das Verhalten von Bierhefe und Baekkerhefe gegenueber angebotenem Aneurin. **Biochem. Z.**, 309: 212.

(11) **FLEMING, A., SMITH, G.**—1944. Some methods for the study of moulds. **Trans. Brit. Myc. Soc.**, 27: 13.

(12) **HADLEY, P.**—1927. Microbic dissociation. **J. Infect. Dis.**, 40: 1.

(13) **KAPLAN, R. W.**—1950. Mutationsforschung an Bakterien. **Naturwiss.**, 37: 249, 276.

(14) **KATZNELSON, H.**—1944. The differentiation of Bacillus polymyxa and Bacillus macerans on the basis of their vitamin requirements. **J. Bact.,** 48: 495.

(15) **KNIGHT, B. C. J. G., PROOM, H.**—1950. A comparative survey of the nutrition and physiology of mesophilic species in the genus Bacillus. **J. gen. Microbiol.,** 4: 508.

(16) **LODDER, J.**—1934. Die anaskosporogenen Hefen. Erste Haelfte. Verhandel Akad. Wetenschappen, Amsterdam.

(17) Manual of methods for pure culture study of bacteria. II_{50}-7. **Soc. Am. Bacteriologists.** Geneva, N. Y.

(18) **MICKLE, W. A., JONES, C. P.**—1939. Dissociation of Candida albicans by lithium chloride and immunes serum. **J. Bact.,** 39: 633.

(19) **OLSON, B. H., JOHNSON, M. J.**—1949. Factors producing high yeast yields in synthetic media. **J. Bact.,** 57: 235.

(20) **PORCHET, B.**—1938. Contribution à l'étude de la levure Torulopsis pulcherrima. **Ann. Ferment.,** 4: 385.

(21) **PUNKARI, L., HENRICI, A. T.**—1933. A study of variations in a chromogenic asporogenous yeast. **J. Bact.,** 26: 125.

(22) **PUNKARI, L., HENRICI, A. T.**—1935. Further studies on spontaneous variations of Torula pulcherrima. **J. Bact.,** 29: 259.

(23) **RIVALIER, E., SEYDEL, S.**—1932. Cultures minces sur lames gélosées, colorées et examinées in situ en préparations définitives, pour l'étude des Criptogrames microscopiques. **Compt. rend. Soc. Biol.,** 110: 181.

(24) **ROBERTS, C.**—1946. A comparative study of Torulopsis pulcherrima and Taphrina deformans in culture. **Farlowia,** 2: 345. Citado en **SKINNER, C. E., EMMONS, C. W., TSUCHIYA, E. M.**—1947. **Henrici's Molds, Yeasts, and Actinomycetes,** 2.ª ed., p. 288, Wiley, New York.

(25) **ROBERTS, C.**—1946. Effect of iron and other factors on the production of pigment by the yeast Torulopsis pulcherrima. **Am. J. Botany,** 33: 237. Ref. C. A. 1946, 5.100.

(26) **SANTA MARIA, J.**—1950. Un nuevo medio de cultivo: agar de grama. **Microb. Española,** 3: 31.

(27) **SANTA MARIA, J.**—1950. Producción de levadura alimento y levadura prensada de panadería de plantas espontáneas abundantes en España. Comunicación al II Congreso Nacional de Ingeniería.

(28) **SANTA MARIA, J.**—1950. Aprovechamiento de la grama (Cynodon Dactylon) como materia prima en las industrias de fermentación.

Comunicación al VIII Congreso Internacional de Industrias Agrícolas. Bruselas y 1945. Datos sin publicar.

(29) **SCHOPFER, W. H. GUILLOND, M.**—1944. Requirements of growth factors of twenty-three species and varieties of the genus Candida. Production of lactoflavin. **Arch. sci. phys. et nat.,** 26, suppl.: 232. Ref.: C. A. 1947, 6.298e.

(30) **SHAW, F. W.**—1931. A morphological study of the genus Monilia. **Zt. Bakt. Par. Infek. I. Orig.,** 119: 460.

(31) **SKINNER, C. E.**—1947. The yeast-like fungi Candida and Brettanomyces. **Bact. Rev.,** 11: 227.

(32) **SKINNER, C. E., EMMONS, C. W., TSUCHIYA, H. M.**—1947. Henrici's Molds, Yeasts, and Actinomycetes, 2.ª ed., p. 294, Wiley, New York.

(33) Idem, p. 288.

(34) **SMITH, G.**—1946. An Introduction to Industrial Mycology, third edition, p. 174, Arnold, London.

(35) **STOKES, J. L., LARSEN, A., GUNNES, M.**—1947. Relation of biotin to the formation of aspartic acid by microorganisms. **J. Bact.,** 54: 19.

(36) **STOKES, J. L., LARSEN, A., GUNNES, M.**—1947. Biotin and the synthesis of aspartic acid by microorganisms. **J. Bact.,** 54: 219.

(37) Técnica comunicada directamente por los laboratorios Difco, basada en la descripción de Wickerham y Rettger. 1939. **J. Tropical Med. and Hyg.,** 42: 176.

(38) **THAYSEN, A. C., MORRIS, M.**—1943. Preparation of a giant strain of Torulopsis utilis. **Nature,** 152: 526.

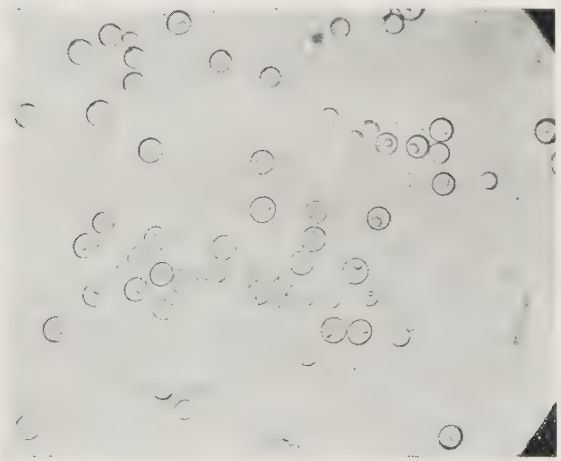
(39) **WICKERHAM, L. J.**—1946. A critical evaluation of the nitrogen assimilation tests communly used in the classification of yeasts. **J. Bact.,** 52: 293.

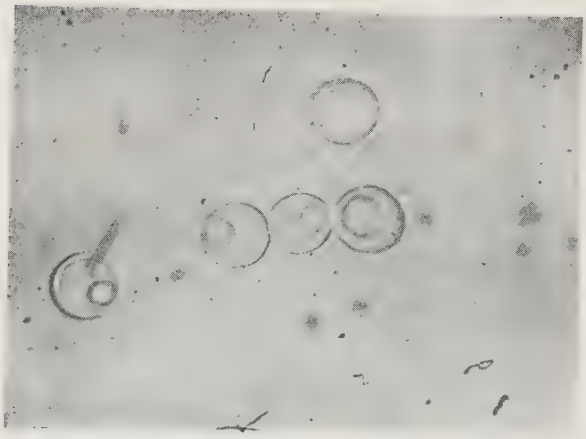
(40) **WICKERHAM, L. J., BURTON, K. A.**—1948. Carbon assimilation tests for the classification of yeasts. **J. Bact.,** 56: 363.

(41) **WINDISCH, S.**—1938. Zur Kenntnis der Askosporenbildung bei Torulopsis pulcherrima (Lindner) Sacc. **Arch. Mikrob.,** 9: 551.

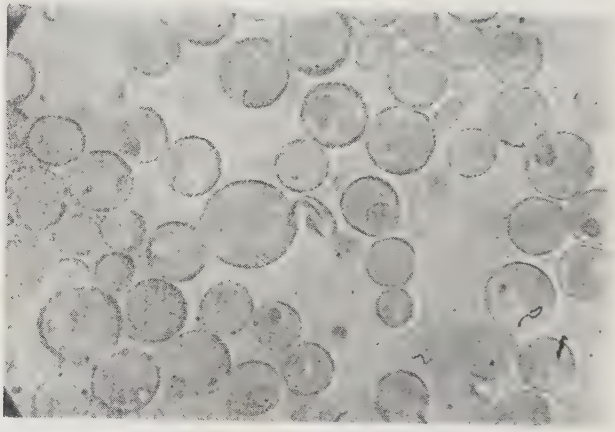
(42) **WINDISCH, S.**—1940. Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen an Torulopsis pulcherrima (Lindner) Saccardo und Candida tropicalis (Castellani) Berkhout. Ein Beitrag zur Systematik der Gaerungsmonilien. **Arch. Mikrob.,** 11: 368.

Fig. 1.—Aspecto característico de Candida putcherrima *var. liquefaciens, variante Tl, de estría agar malta a los tres días; coloción negativa con nigrosina (× 1.020).*

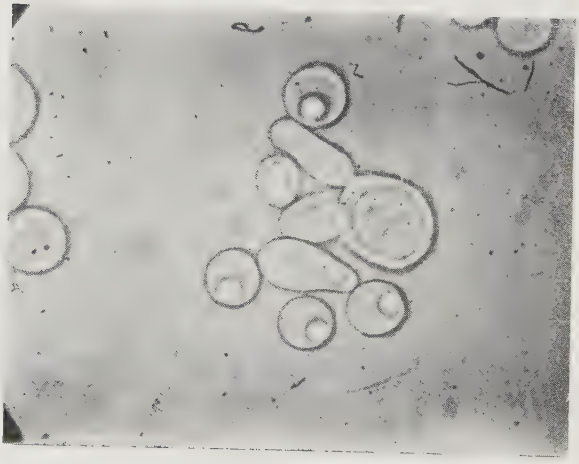




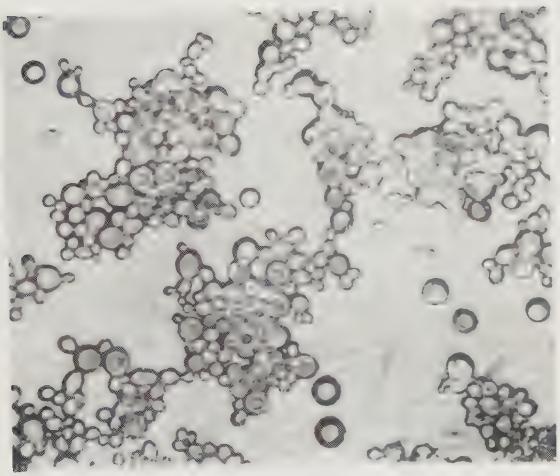
3.



4.

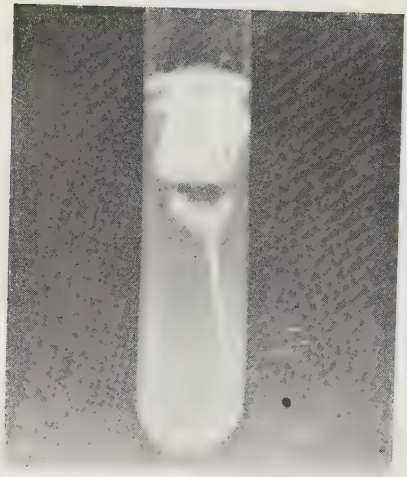


5.

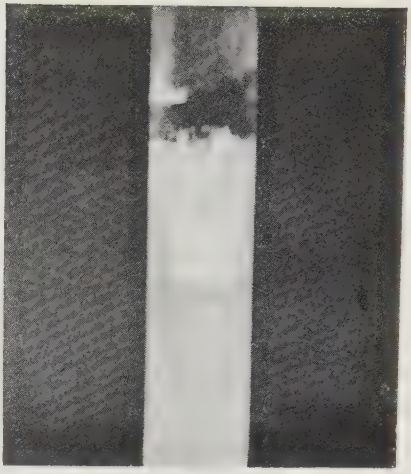


Figs. 2 a 7.—Típico desarrollo en formas exclusivamente "pulcherrima", de la C. pulcherrima *var.* liquefaciens, *variante Tl, cuando crece en medios exentos de vitaminas. Se ha empleado el medio sintético de Wickerham, libre de vitaminas, con 17 por 100 de agar lavado.*

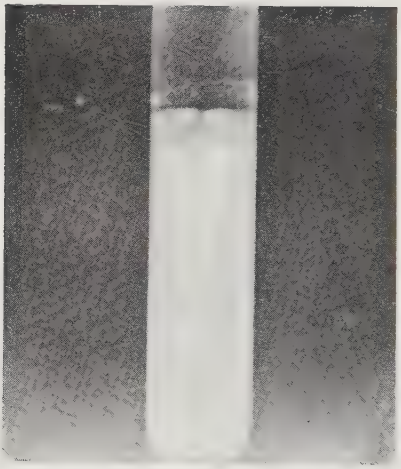
2: a los once días (× 410).
3: a los once días (× 1.350).
4, 5 y 6: a los veintidós días (× 1.350).
7: cultivo en portaobjetos, según Rivalier-Seydel (× 410).



8.

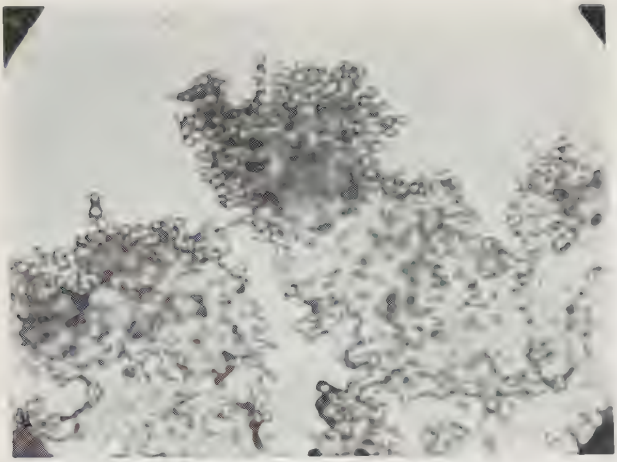


9.

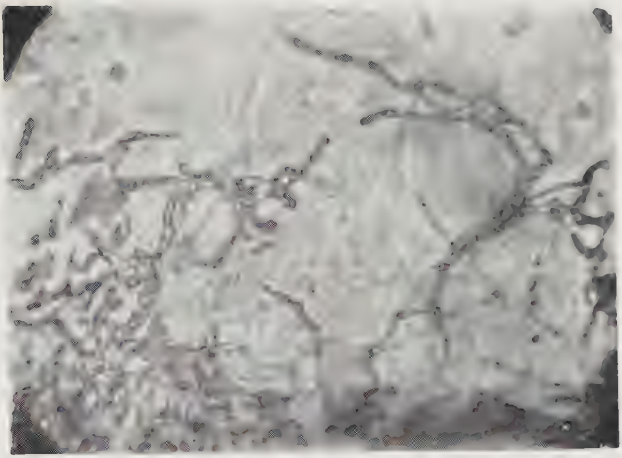


10.

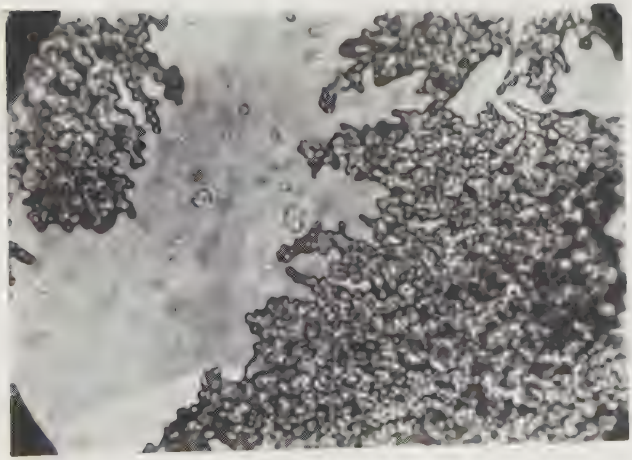
Figs. 8 a 10.—Liquidación de la gelatina por C. pulcherrima *var.* liquefaciens, *variante Tl.*
8: picadura gelatina de malta a los cuarenta y ocho días.
9: picadura gelatina de carne a los treinta y cuatro días.
10: picadura gelatina al agua a los veintiocho días.



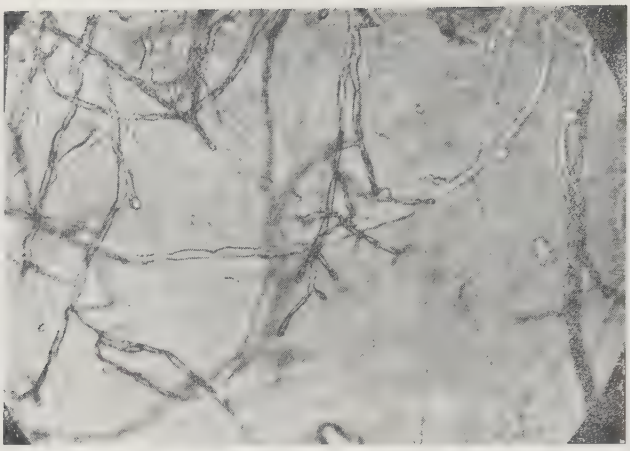
(1)



(2)



(3)



14.

Figs. 11 a 14.—Ausencia del poder de formar pseudomicelio en C. pulcherrima *var.* liquefaciens, *variante Tl. Las microfotografías están tomadas directamente, como en todas las restantes figuras similares, del portaobjetos en el que, según la técnica de Rivalier-Seydel, se ha desarrollado sobre agar putata la* C. pulcherrima Tl *durante veintidós días, número 1, y setenta y cinco días, número 3. Se compara, en las mismas condiciones, con una* Candida *sin clasificar, que forma abundante micelio: número 2, veintidós días, y número 4, setenta y cinco días (× 410).*

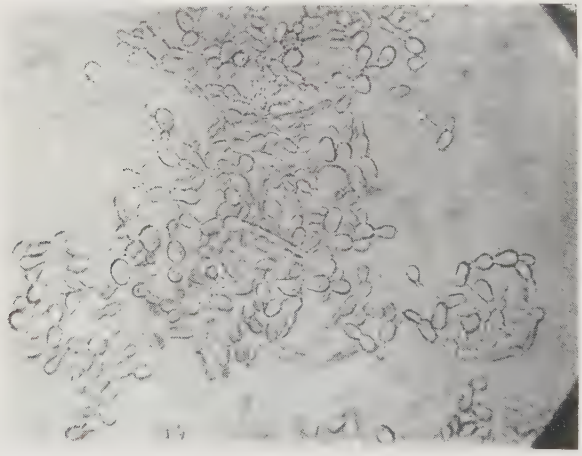
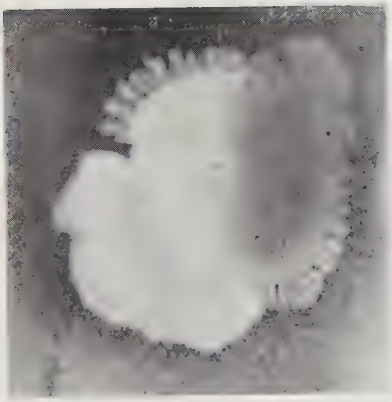
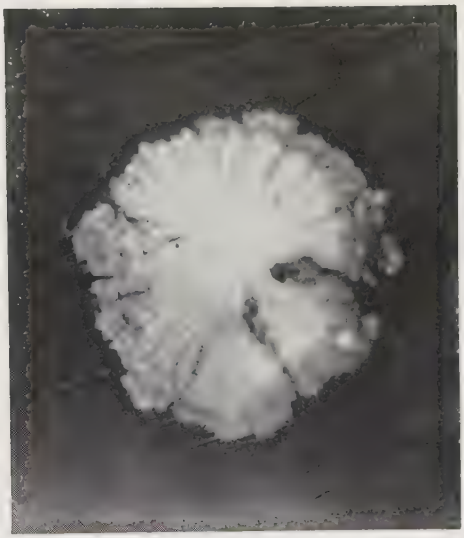


Fig. 15.—Aparición de formas extrañas por la acción del LiCl. Microfotografía del desarrollo superficial en medio líquido Wickerham exento de vitaminas más 1γ de biotina y 2,5 gr. de LiCl por 1.000 c. c., a los veintiún días de sembrado. (× 410).

16.



17.



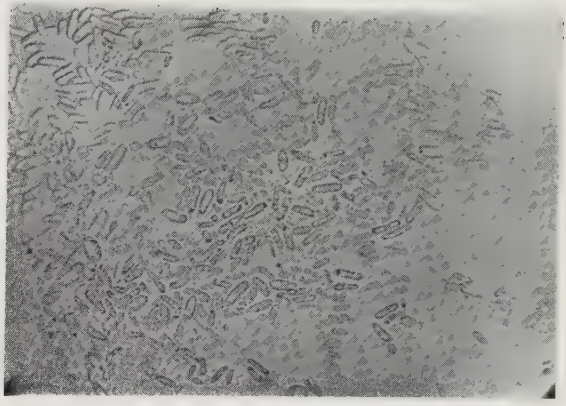
18.

Figs. 16 a 18.—Colonias gigantes de C. pulcherrima *var.* liquefaciens, *variante Tl. en diferentes medios en frascos Roux de 250 c. c.*

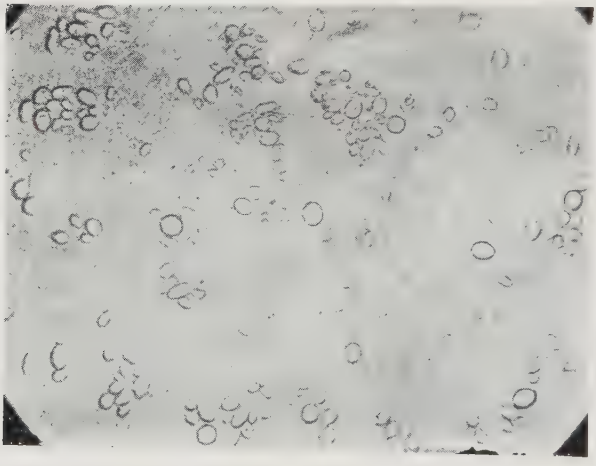
16: en agar Sabouraud, a los siete meses; no se observó la aparición de ninguna zona de variación (× 1,1).

17: en agar Wickerham completo, a los tres meses; la zona inferior derecha de la fotografía, con un borde que recuerda al de una tela fruncida, es una colonia sumergida de color rojizo que se desarrolló paralelamente a la superficial que se aprecia en la zona superior izquierda (× 1,1).

18: en agar patata, a los siete meses. Se observan en la figura dos lóbulos más oscuros, ya tocados con la aguja de siembra repetidas veces. De uno de ellos se aisló la otra variante de C. pulcherrima, *que designamos como TlCL2 (× 1,3).*

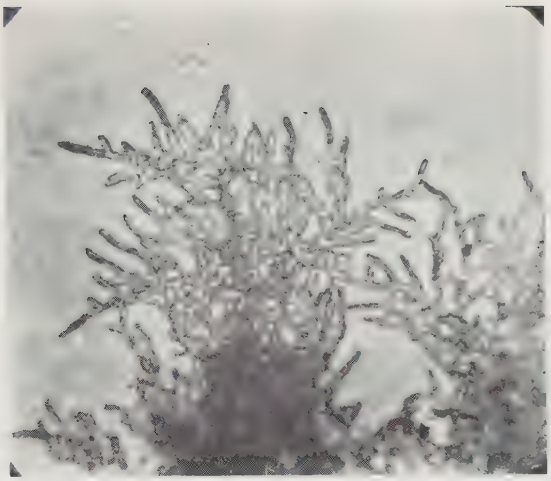


19.



20.

Figs. 19 y 20.—Diferencias morfológicas entre las variantes Tl y TlCL2 de C. pulcherrima *var.* liquefaciens. *De estrías agar patata TlCL2 y Tl, respectivamente (× 410).*



21.

22.

Figs. 21 y 22.—Formación de pseudomicelio por C. pulcherrima *var.* liquefaciens, *variante TlCL2.*

21: cultivo en portaobjetos, según Rivalier-Seydel, en agar patata a los seis días; variante TlCL2 (× 410).

22: íden con la variante Tl (× 410).

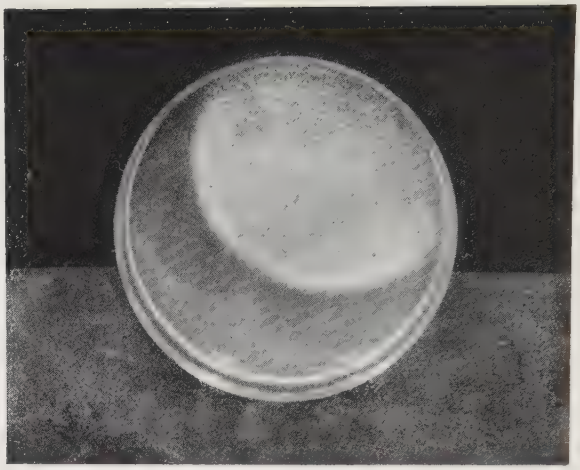


Fig. 23.—Respuesta positiva de C. pulcherrima *var.* liquefaciens, *variante TlCL2 a la biotina; método auxanográfico de Beijerinck en agar sintético Wickerham exento de vitaminas. Incubación: cuarenta y ocho horas, a 30°.*

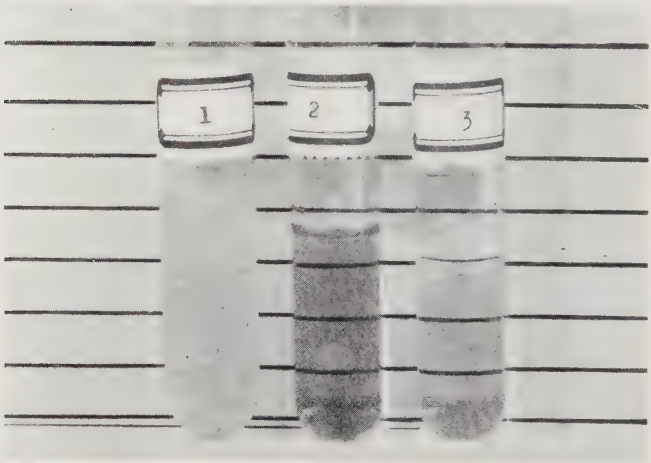
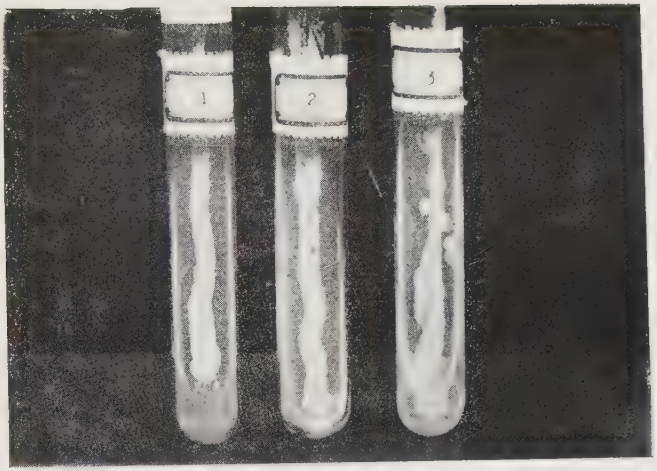
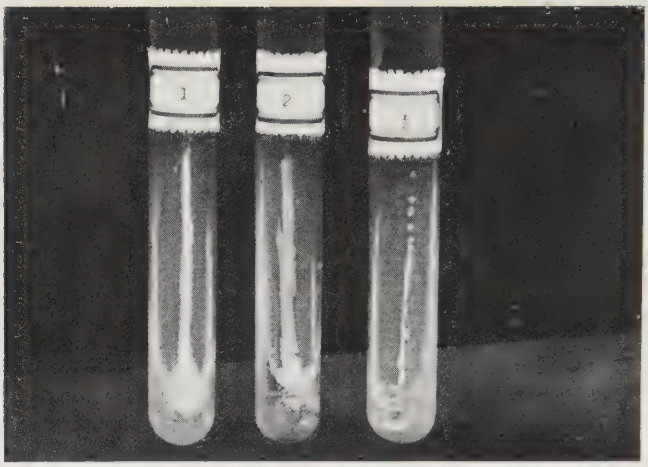


Fig. 24.—Respuesta positiva de C. pulcherrima *var.* liquefaciens, *variante TlCL2, a la biotina. Tubo 1: Medio sintético Wickerham exento de vitaminas más 0,078 γ de biotina por 1.000 c. c. Tubo 2: Medio sintético Wickerham exento de vitaminas. Los dos tubos sembrados con la misma proporción. Incubación: tres días, a 30°. Tubo 3: Augua destilada.*



25.

26.



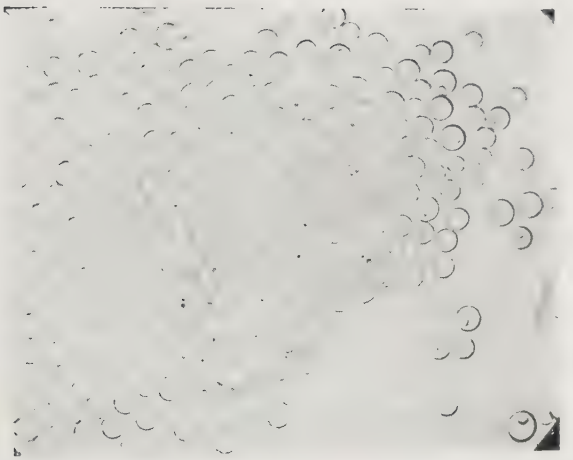
27.

Fig. 25 a 27.—Desarrollo de T. utilis *y* C. pulcherrima *en medios de diferente composición.*

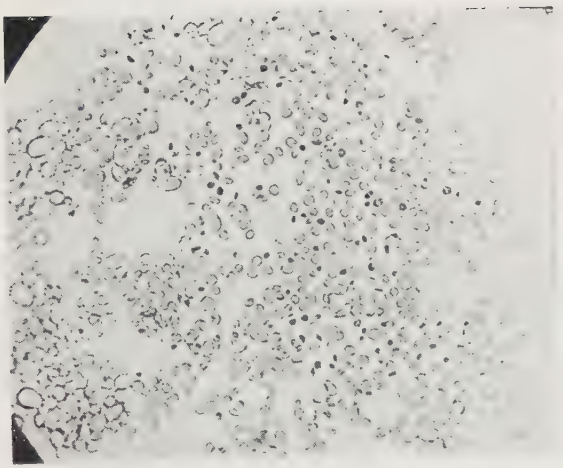
25: Torulopsis utilis *var.* major. *Tubo 1: agar sintético Wickerham completo. Tubo 2: agar sintético Wickerham exento de vitaminas más 1 γ de biotina por 1.000 grs. Tubo 3: agar sintético de Wickerham exento de vitaminas.*

26: C. pulcherrima *var.* liquefaciens, *variante Tl. Tubos 1, 2 y 3: iguales medios que en 25.*

27: C. pulcherrima *var.* liquefaciens, *variante TlCL2. Tubos 1, 2 y 3: iguales medios que en 25, únicamente que 1 y 2 están invertidos. Obsérvese en tubo 2, que es agar sintético Wickerham completo, la silueta de la estría en el agar, dibujada por el pigmento difundido.*

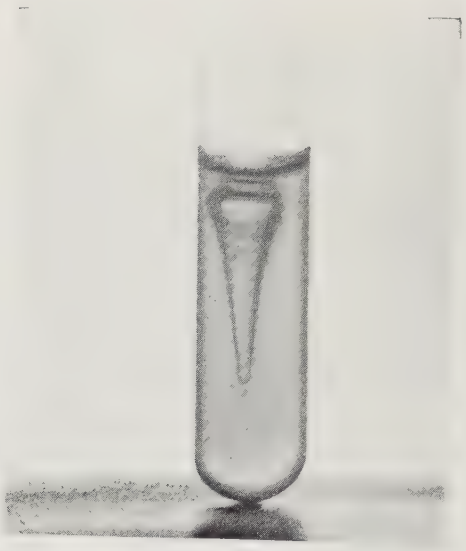


28.

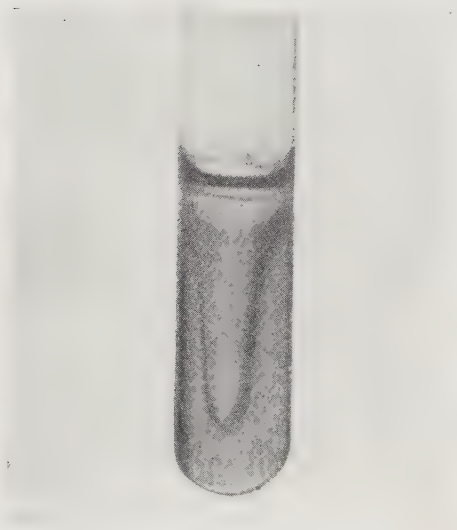


29.

Figs. 28 y 29.—Diferencias morfológicas entre las variantes Tl y TlCL2 de C. pulcherrima *var.* liquefaciens. *Al desarrollarse en medios exentos de vitaminas Tl forma sus clásicas "pulcherrima" (28), mientras que TlCL2 lo hace con células de aspecto vario (29) (× 410).*



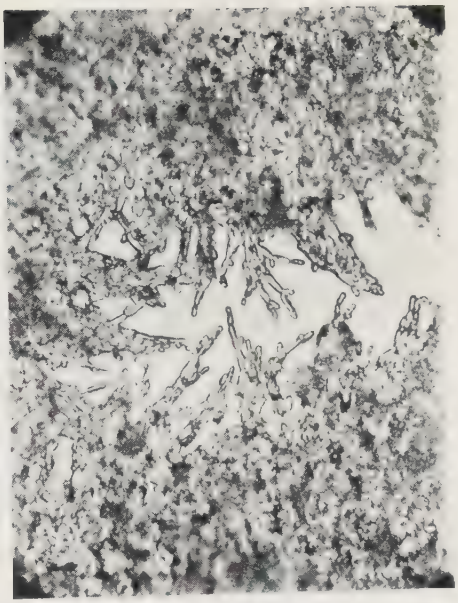
30.



31.

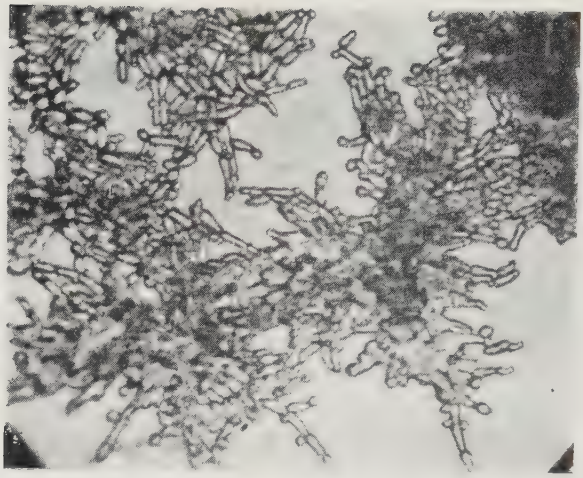
Figs. 30 y 31.—La capacidad de liquidar la gelatina es común a las dos variantes de C. pulcherrima *var.* liquefaciens. *Las dos fotografías de la figura corresponden a una picadura de TlCL2 en gelatina al agua a los dieciocho días (30) y la misma a los cincuenta días (31).*

32.

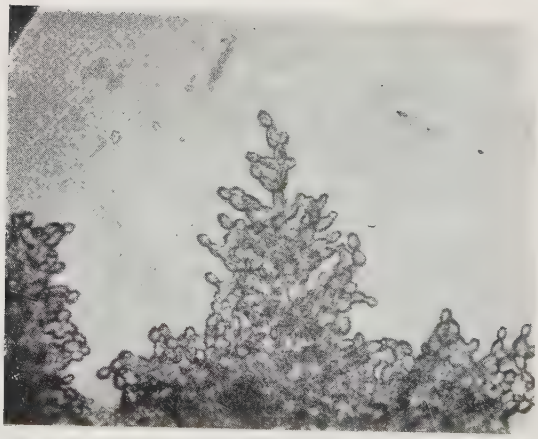


33.

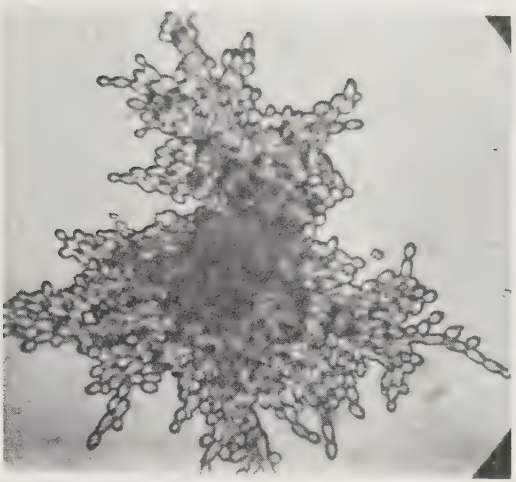
34.



35.



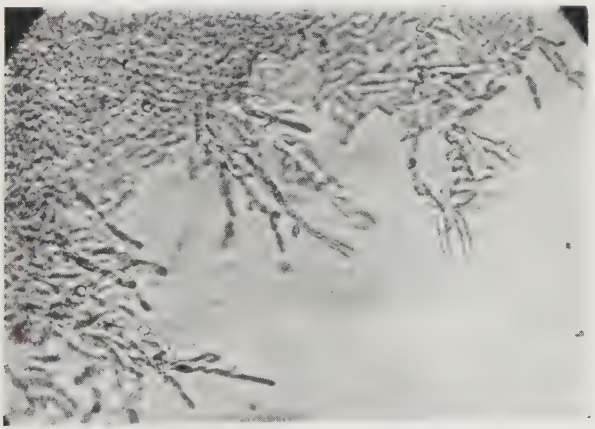
36.



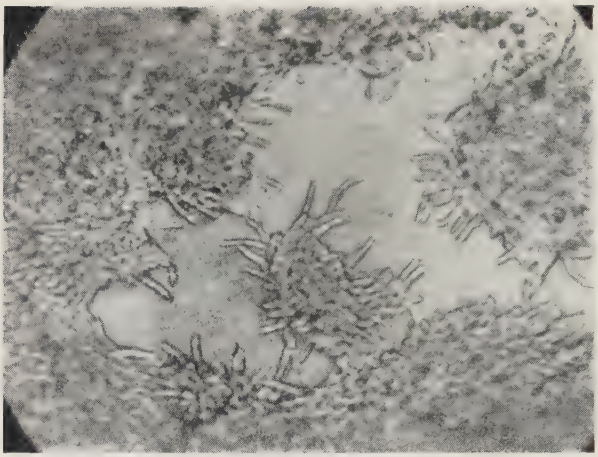
37.

Figs. 32 a 37.—Falta de influencia de la composición del medio en la formación del pseudomicelio por la variante TICL2 de C. pulcherrima *var.* liquefaciens. *Cultivos en portaobjetos, según técnica de Rivalier-Seydel.*

32: agar maíz, a los tres días.
33 y 34: agar Wickerham completo a los seis y trece días, respectivamente.
35: agar Wickerham exento de vitaminas más 1 γ de biotina por 1.000 gr., a los seis días.
36 y 37: agar Wickerham exento de vitaminas, a los ocho días (× 419).



38.

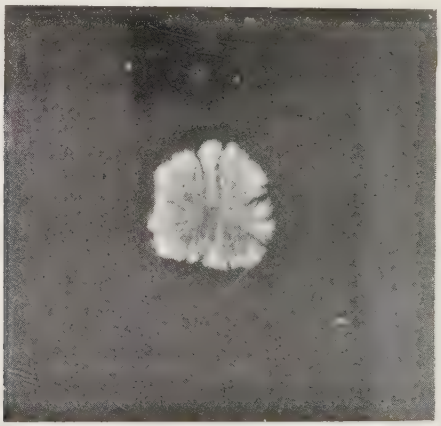


39.

Figs. 38 y 39.—Comprobación de la formación de pseudomicelio por la variante TlCL2 de C. pulcherrima *var.* liquefaciens *por otras técnicas.*

38: técnica de Dalmáu en placa agar Wickerham completo, a los seis días.

39: siembra en placa agar maíz, rascando a los doce días (× 410).



40.

Fig. 40.—Colonia gigante de C. pulcherrima *var.* liquefaciens, *variante TlCL2, en frasco Roux de 250 c. c. en agar patata a los dos meses y medio. La colonia es rojiza, y se aprecia que tiene superficie rugosa (tamaño natural).*

INFORMACION

ACTAS DE LA SOCIEDAD

MADRID

Acta de la sesión celebrada el día 10 de noviembre de 1952.

Bajo la presidencia de don Antonio Ruiz Falcó se abre la sesión, a las veinte horas, en un salón de los locales del Consejo Superior de Investigaciones Científicas sitos en Medinaceli, 4.

Se aprueba el acta de la sesión anterior. Son admitidos como socios: doña María del Carmen Cándida González Vázquez, don Jesús Morales Manzano y don Julio Pérez Silva, Licenciados en Ciencias Naturales, presentados por don Arnaldo Socías y don Jaime del Campo; y Cátedra de Microbiología de la Facultad de Farmacia de Madrid y las señoritas María Aparicio Gallego, Licenciado en Ciencias Químicas, y Genoveva Tejerina Domínguez, Licenciado en Farmacia, presentadas por don Lorenzo Vilas y don Vicente Martínez Piqueras.

El señor Presidente da cuenta del nombramiento de Socios correspondientes de la Asociación Mexicana de Microbiólogía, otorgados a él y al Secretario, y expresa el agradecimiento de ambos por dicha distinción. La Reunión acuerda, dada la no existencia de Socios correspondientes en la Sociedad de Microbiólogos Españoles, nombrar Socio de Honor al Presidente de dicha Asociación, Doctor A. Sánchez-Marroquín, como representante de los microbiólogos del país hermano.

La señorita Genoveva Tejerina da lectura a un trabajo del señor Martínez Cordón titulado «Observaciones sobre la influencia del ión Br en los virus vegetales». El señor Vilas lee el trabajo del señor Izquierdo Tamayo, «Estudios sobre aderezo de aceitunas verdes. VIII. El proceso microbiano de la fermentación». El señor Vicente Jordana da cuenta de otro del señor Sánchez-Marroquín acerca

de «Algunos datos sobre streptomyces productores de antibióticos», y, por último, el señor Fraile presenta un cuarto trabajo, «Método sencillo para obtención de actinomicina», de los señores Gonçalves Lima y Sánchez-Marroquín.

Finalmente, el señor Presidente expone las últimas noticias recibidas en la Sociedad sobre el Congreso Internacional de Microbiología de Roma del próximo año, acordándose intensificar los trabajos preparatorios que se desarrollan actualmente para lograr el mejor éxito de la participación española en dicho Congreso.

Y no habiendo más asuntos que tratar, se levanta la sesión a las veintiuna quince horas.

BIBLIOGRAFIA

LUIS E. NAJERA: **Nomenclátor de las enfermedades transmisibles y simili-transmisibles.**—1952. Universidad Nacional del Litoral. Facultad de Higiene y Medicina Preventiva. Santa Fe (Argentina). 262 págs.

La unificación de la terminología nosológica es una aspiración cuyo logro está erizado de dificultades y cuya trascendencia, siempre indiscutible, se ha acentuado en el último medio siglo por el conocimiento de numerosas enfermedades designadas con arreglo a criterios muy distintos. Prueba de la importancia de la materia es que la O. M. S. ha creído oportuno crear una sección de nomenclatura nosológica.

No es hacedero, hoy por hoy, llegar a la unificación, pero sí es factible una exposición metódica de las enfermedades transmisibles, incluyendo las de nuevo conocimiento, no escasas por cierto.

El Doctor Nájera, en la actualidad Profesor de Epidemiología de la Facultad de Higiene y Medicina Preventiva de Santa Fe (Argentina), de quien guardamos tan grato recuerdo en España por su brillante actuación sanitaria, ha escrito un libro excelente, como suyo, encaminado a resolver el problema de la nomenclatura de las enfermedades transmisibles, del que su autor opina que constituye sólo un ensayo, pero que es, en rigor, una obra acabada, dentro de las posibilidades de la ingente empresa acometida por nuestro compatriota, y que sólo con una extensa cultura y un criterio de vuelos magistrales puede llevarse a cabo con el acierto que lo ha hecho este ilustre epidemiólogo. En corroboración de nuestro aserto baste decir que en el estudio que nos ocupa se registran 357 afecciones transmisibles, siendo así que en otras publicaciones de nuestros días, extranjeras y de firmas bien calificadas, se acusa solamente alrededor del centenar.

El libro se compone de tres partes. En la primera se exponen los anteceden-

tes del problema planteado por la nomenclatura nosológica, la extensión y límites del Nomenclátor, el criterio a que se ha atenido para adoptar las denominaciones típicas, etc. En la segunda, figura la clasificación etiológica, por orden alfabético, de las denominaciones tipo y los sinónimos correspondientes, agrupados igualmente por orden alfabético. En la tercera, expone una relación de las denominaciones típicas y de sus sinónimos, por orden alfabético, así como las indicaciones para encontrarlas en la parte anterior.

Consigna el autor, finalmente, una relación bibliográfica con ciento cuarenta y nueve citas, que constituye la parte fundamental de la bibliografía consultada durante la redacción de su libro, dado que la exposición de todos los trabajos examinados hubiera ocupado un espacio excesivo.

Entre otros comentarios sugestivos, destaca el referente a la confusión que, a veces, origina la eponimia. Es un mal que padecemos tan agudizado como el del empleo de palabras formadas por iniciales. Uno y otro recurso son excelentes cuando se limitan a un número de casos de escasa cuantía, pero pierden su virtud nemotécnica cuando su aplicación alcanza las proporciones que ahora observamos.

Constituye un acierto más de la obra el concepto de «enfermedades similitransmisibles», de auténtica originalidad.

El libro del Profesor Náiera, por consiguiente, no es una mera enumeración de procesos agrupados y clasificados con acierto, precedida de unas atinadas consideraciones a guisa de antecedentes, no. La obra de Nájera, como todo lo que ha publicado este ilustre autor, representa, además de una iniciativa feliz, la palmaria demostración de una preparación humanística en cierto modo verdaderamente inusitada, y que conlleva numerosas sugestiones que se asimilan con deleite; estando llamada a figurar en todas las bibliotecas de los sanitarios, sin distinción de especialidades, ya que lo mismo puede interesar al epidemiólogo que al clínico, porque actualmente no podemos circunscribirnos al conocimiento estricto de las enfermedades infecto-contagiosas, ni vale ya el concepto, otrora justificado, de la llamada patología exótica; sino que la epidemiología, en particular, y la patología, en general, merced al vector vertiginoso que viene a ser la navegación aérea, se ha universalizado, ofreciendo al patólogo problemas sanitarios que hace años se creían exclusivos de lejanas latitudes.

Todo lo expuesto justifica que nos felicitemos por la aparición del libro del Profesor Nájera.—**F. Moreno de Vega.**

HANS VOGEL: **Mikrobiologie im Reagenzglas.**—1952. Verlag Hans Carl. Nürnberg. 164 págs.

En este librito, el Prof. Vogel ha deseado, indudablemente, poner al alcance del público ilustrado, los elementales conocimientos que, acerca de la Microbiología, son hoy aceptados.

Quien esté acostumbrado a las obras de mayor enjundia del Profesor Vogel no busque en este libro nuevos conocimientos, si es que se trata de un bacteriólogo al día; ahora bien, para el biólogo en general, no es libro corriente, sino perfecto resumen de conocimientos actuales en esta rama de la Ciencia, que cada día está más ligada a la biología y bioquímica. Aun para el microbiólogo experto le será útil la lectura de alguno de sus capítulos, pues ya nuestra rama del conocimiento es tan frondosa que la especialización se va imponiendo en tal forma que se olvidan o desconocen extremos muy interesantes.

En resumen: un libro indispensable para el biólogo que quiera iniciarse en microbiología y un libro útil para el microbiólogo atareado en problemas concretos que no le permiten ojeadas generales.

La edición, pulcra, bien cuidada; únicamente la iconografía la hallamos tan elemental que quizás nada se hubiera perdido en suprimirla, ya que los lectores a quienes va destinado el libro deben tener suficiente conocimiento de estos esquemas de elementalísima biología, y si a esto no llegan, difícil será que puedan asimilar el texto, que es de mayor altura.—**A. Valls Conforto.**

Directory of collections and list of species maintained in New Zealand.—1951. London: His Majesty's Stationery Office.

En el marco de la «British Commonwealth Collections of Micro-organisms», recoge el folleto de que nos ocupamos la lista alfabética de las colecciones (11) de microorganismos de Nueva Zelanda y una lista de especies, con dos secciones: Bacterias y Hongos. La mayor cantidad de especies (alrededor de las 80) corresponde al género Salmonella. Otros géneros con representación nutrida, aunque bastante inferior a la del género citado, son los Clostridium, Fomes, Penicillium, Polyporus y Poria.

Esta compilación, efectuada por el Comité neozelandés de especialistas, representa un aporte de evidente utilidad para todos los cultivadores de la Microbiología.

INDICE DE ARTICULOS DE REVISTAS

Bajo este epígrafe se efectúa la publicación sistemática, por orden cronológico, de los títulos de los trabajos que han aparecido en los últimos años en las principales revistas microbiológicas. En este número se recogen los títulos correspondientes a los tomos 78 y 79 (1950) de **Annales de l'Institut Pasteur** (Biblioteca del Instituto de Edafología y Fisiología Vegetal.—I. E.).

Mediante convenio con el Servicio de Microfilm del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, MICROBIOLOGIA ESPAÑOLA puede facilitar a los suscriptores reproducciones de los artículos que deseen, para lo cual bastará escribir a la Redacción de la Revista, Serrano, 113, Madrid, precisando el número en negrita que encabeza el artículo cuya copia se solicita.

Los precios y condiciones se detallan al final de esta Sección.

2.855

LOISELEUR (J.).—1950. Formation et propriétés de la fonction anticorps correspondants aux molécules organiques de faible poids moléculaire. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 1-64. I. E.

2.856

MONOD (Jacques) et TORRIANI (Anne-Marie).—1950. De l'amylomaltase d'escherichia coli. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 65-77. I. E.

2.857

GUELIN (A.).—1950. La survie du bacille typhique vi et de son bactériophage dans l'eau. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 78-82. I. E.

2.858

SAINT-PRIX (L.) et MUTERMILCH (S.).—1950. Etude de quelques substances, dérivées de terpènes, capables d'accroitre la sensibilité des révélateurs de réagines syphilitiques (le camphène, l'isobornéol, le thymol, le menthol). **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 83-92. I. E.

2.859

SARTORY (A.), MEYER (Jacques) et CAGNANT (Paul).—1950. Contribution a l'étude des propriétés biologiques des acids gras ramifiés. I.—Sur les propriétés toxiques de quelques acides ramifiés non saturés. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 93-96. I. E.

2.860

G. KARLSON (Alfred), M. DELAUDE (André) et M. NEEDHAM (Gerald).—1950. L'emploi de la gélose au jaune d'œuf pour la mise en évidence des bacilles tuberculeux résistants a la streptomycine ou a l'acide para-aminosalicylique. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 97-104. I. E.

2.861

LINZ (Roger).—1950. Sur le mécanisme de l'action de la streptomycine. II.—La résistance a la streptomycine. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 105-114 I. E.

2.862

NISMAN (B.) et VINET (G.).—1950. Le mécanisme enzymatique de la réaction de désamination couplee chez les bactéries anaérobies strictes du groupe Cl. sporogenes. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 115-132. I. E.

2.863

PREVOT (A. R.) et MALGRAS (J.).—1950. Recherches sur l'hemolysine de Cl. sordellii. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 133-135. I. E.

2.864

LIMASSET (P.), CORNUET (P.) et GENDRON (Y.).—1950. Comparaison entre l'extraction du virus de la mosaique du tabac par voie mécanique et sous l'action des enzymes de tube digestif de l'escargot. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 135-138. I. E.

2.865

MOREL (A.), JOSSERAND (A.), VIALLIER (J.) et KALB (J. C.).—1950. Effet sur l'accroissement d'une tumeur expérimentale du rat blanc (souche T8 de guérin) de l'administration par voie buccale d'un complexe ferrico-sodique de l'acide tartrique. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 128-139. I. E.

2.866

BOYER (F.), TROESLER (J.), RIST (N.) et TABONE.—1950. Recherches sur le mode d'activité des sulfones. II.—Etude analytique. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 140-143. I. E.

2.867

EDLINGER (Ewald) et FAGUET (Michel).—1950. Antibiotiques et lyse bactériophagique. IV.—Etude, au microbiophotomètre, de l'action conjuguée du bactériophage et de la streptomycine sur la culture d'un staphylocoque blanc. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 144-146. I. E.

2.868

SZTURM (S.), PIECHAUD (M.) et NEEL (R.).—1950. Un nouveau type antigénique de shigella boydii. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 146-147. I. E.

2.869

BUTTIAUX (R.), LE MINOR (L.) et KESTELOOT (A.).—1950. Les salmonelloses dans le Nord de la France. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 147-149. I. E.

2.870

STAVRIANOPOULOS (Theodore G.). — 1950. L'isolément de l'Achorion shonleini en Grèce sur le milieu nutritif de sabouraud modifié. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 149-150. I. E.

2.871

LOISELEUR (J.).—1950. Formation et propriétés de la fonction-anticorps correspondant aux molécules organiques de faible poids moléculaire. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 151-176. I. E.

2.872

NEDELKOVITCH (Jevrem).—1950. Mode de multiplication du bacille de Koch. Morphologie du bacille et de ses colonies. Quelques sources d'erreurs. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 177-189. I. E.

2.873

GUILLAUMIE (Maylis), MRCHEVITCH (Slava), DELAUNAY (Marcelle) et BECOULET (G.).—1950. Etudes sur le collagène. IV.—Evaluation de l'activité collagénasique de la toxine perfringens. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 190-200. I. E.

2.874

GUILLAUMIE (Maylis), MRCHEVITCH (Slava), DELAUNAY (Marcelle) et BECOULET (G.).—1950. Détermination du titre anti-collagénasique des sérums anti-perfringens. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 200-207. I. E.

2.875

DUBOS (René) et NOUFFLARD (Henriette).—1950. Milieux semi-synthétique a l'albumine pour la culture des bacilles tuberculeux. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 208-226. I. E.

2.876

SOLOMIDES (J.).—1950. Le distillat d'huille de foie de morue. Propriétés antibiotiques et premières applications thérapeutiques. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 227-241. I. E.

2.877

CORDIER (Georgette), CLAVIERAS (Jean) et OUNAIS (Aziz).—1950. De quelques recherches consacrées au virus de la maladie de Newcastle en Tunise. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 242-261. I. E.

2.878

MUTSAARS (W.) et LISON (L.).—1950. L'action antimétachromatique de la streptomycine. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 262-273. I. E.

2.879

PREVOT (A. R.) et BRYGOO (E. R.).—1950. Etude de la première souche française de Cl. botulinum D. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 274-276.

2.880 I. E.

BLANC (Georges), BRUNEAU (Jean) et CHABAUD (Alain).—1950. Quelques essais de transmission de la toxoplasmose par arthropodes piqueurs. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 277-280. I. E.

2.881

VALTIS (J.) et DEINSE (Van).—1950. Mise en évidence de l'allergie latente chez le cobaye. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 281-282. I. E.

2.882

SOHIER (R.), avec la collaboration de JUILLARD (J.) et TRIMBERGER (I.).—1950. Réaction d'hémagglutination, type dubos middlebrook réalisée avec une tuberculine purifiée. Résultats obtenus. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 283-285. I. E.

2.883

SOHIER (R.).—1950. Intradermo-réaction tuberculinique a l'aiguille. Résultats obtenus avec un instrument a pénétration automatique reglable. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 286-288. I. E.

2.884

REYNES (V.).—1950. Sur une souche atypique de bacille pesteux. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 288-290. I. E.

2.885

P'AN (H. S.), TCHAN (Y. T.) et POCHON (J.).—1950. Etude cytologique de P. pestis soumis a l'influence du bactériophage spécifique. II.—Etude de la cellule par la méthode de Robinow au violet cristal. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 291-292. I. E.

2.886

WANG (T. L.).—1950. Recherches sur les benzoatases des azotobacter. II.—Influence de l'acide benzoique sur la croissance et l'activité enzymatique. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 293-295. I. E.

2.887

MAUPIN (B.).—1950. Etude de la formol-gélification du sérum parallèlement a la réaction au thymol et a la sérologie syphilitique. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 295-298. I. E.

2.888

GAMALEIA (N. F.) (1859-1949). **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 298-301. I. E.

2.889

CORDIER (G.), CLAVIERAS (J.) et OUNAIS (A.).—1950. Vaccination contre la maladie de Newcastle en Tunisie. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 302-306 I. E.

2.890

LOUREIRO (J. A.).—1950. Sur l'efficacité de l'immunisation preventive contre la coqueluche. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 307-335. I. E.

2.891

WAHL (R.) et BLUM-EMERIQUE (L.).—1950. Mutation du phage $C_{1\alpha}$, caractéridée par l'acquisition de l'activité sur les bactéries résistantes des cultures secondaires. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 336-352. I. E.

2.892

WAHL (R.) et LAPEYRE-MENSIGNAC (P.).—1950. L'identification des staphylocoques par les bactériophages. I.—Application aux staphylococcies cutanées récidivantes. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 353-364. I. E.

2.893

WINOGRADSKY (Hélène) et APPERT (J.).—1950. Quelques observations sur la microflore des eaux et des sédiments oligocènes du bassin de manosque (basses-alpes). **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 365-381. I. E.

2.894

CAGNANT (P.) et SARTORY (A.) et MEYER (J.).—1950. Contribution a l'étude des propriétés biologiques des acides gras ramifiés. II.—Sur les propriétés physiologiques de l'acide α-$^{\alpha}$-diméthyl-ω-tridécylénique et de quelques autres acides $^{\alpha}$-α-disubstitués. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 382-391. I. E.

2.895

GUELIN (A.).—1950. Sur l'apparition d'éléments coccoides a partir d'un souche de clostridium perfringens contaminée par le bactériophage. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 392-401. I. E.

2.896

LEVADITI (C.) et VAISMAN (A.).—1950. Antagonisme entre le virus lymphogranulomateux et le treponema pallidum. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 404-406. I. E.

2.897

LEVADITI (C.) et VAISMAN (A.).—1950. Effets antituberculeux exercés par la streptomycine chez les souris contaminées par les souches de bacilles acido-résistants H. 512, BCG et 607. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 407-411. I. E.

2.898

BARSKI (G.) et MAURIN (J.).—1950. Inclusions négriformes en culture de tissu nerveux en l'absence du virus rabique. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 411-414. I. E.

2.899

HAUDUROY (Paul) et ROSSET (Willy).—1950. A propos de la terminologie employée dans l'étude des antibiotiques (sensibilité-résistance-dépendance). **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 414-415. I. E.

2.900

TCHAN (Y. T.) et GIUNTINI (J.).—1950. Action antagoniste chez les cytophagaceae. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 415-416. I. E.

2.901

EDLINGER (Ewald).—1950. Etude de l'action antibiotique in vitro de la chloromycétine sur quelques salmonella. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 417-421. I. E.

2.902

BRISOU (J.).—1950. A propos de salmonella et de shigella coli. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 422-423. I. E.

2.903

GRELET (Norbert).—1950. Culture d'une souche de bacillus megatherium en milieu synthétique glucosé sporulation par pénurie de zinc en présence de calcium. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 423-424. I. E.

2.904

SAINT-PRIX (L.).—1950. Une réaction de floculation révélatrice de l'activité de la tuberculose-maladie. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 425-428. I. E.

2.905

SAINT-PRIX (L.).—1950. Une gono-séroréaction de floculation. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 428-431. I. E.

2.906

NEGRE (L.).—1950. De l'action combinée de l'antigéne méthylique et de la streptomycine sur la tuberculose du cobaye et du lapin. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 435-443. I. E.

2.907

GRASSET (E.).—1950. Variante eugonique du type murin du bacille tuberculeux (Etudes bactériologiques et expérimentales). **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 444-456. I. E.

2.908

MERCIER (P.), PILLET (J.) et Mme. CHABANIER (P.).—1950. Détermination des types de staphilocoques par l'agglutination. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 457-446. I. E.

2.909

GUILLAUMIE (Maylis) et KREGUER (A.).—1950. Nouvelles recherches sur les hémolysines oxydables. **Annales de l'Instituts Pasteur.** 78: 467-480. I. E.

2.910

BADER (R. E.) et HENGEL (R.).—1950. Recherches épidémiologiques sur l'épidémie d'encéphalite. Survenue dans le palatinat de 1947 a 1949. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 418-496. I. E.

2.911

HOOREMAN (M.), AUBERT (J. P.), LEMOIGNE (M.) et MILLET (J.).—1950. Sur la destruction du 2-3 butanediol et de l'acétoïne par les microbes. I.—Cas du bacillus subtilis. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 497-511. I. E.

2.912

HOOREMAN (M.), AUBERT (J. P.), LEMOIGNE (M.) et DUPUY (P.).—1950. Sur la destruction de 2-3 butanediol et de l'acétoïne par les microbes. II.—Utilisation du 2-3 butanediol par B. Megatherium. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 512-517. I. E.

2.913

KEPES (A.).—1950. Accumulation des substances dissoutes par les corps microbiens. Etude quantitative par polarographie. I.—Fixation du bleu de méthylène. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 518-531. I. E.

2.914

GUELIN (A.) et KREGUER (A.).—1950. Action du bactériophage sur la toxicité des cultures jeunes du Cl. perfringens type A. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 532-537. I. E.

2.915

LEPINE (P.) et ATANASIU (P.).—1950. Sur le phénomene d'interférence entre la maladie de teschen et le virus poliomyélitique (souche lansing). **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 540-541. I. E.

2.916

ATANASIU (P.).—1950. Action du borate de phényl mercure sur les virus de la variole aviaire, de la vaccine, de la rage et de la maladie de newcastle. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 541-544. I. E.

2.917

REMLINGER (P.) et BAILLY (J.).—1950. Le choc dit phénique est un choc lapinique. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 544-545. I. E.

2.918

LEVADITI (J. C.), LEPINE (P.), GIUNTINI (J.) et Mlle. CROISSANT (O.).—1950. Modification apportées par ombrage métallique a l'aspect des coupes histologiques observées a l'aide de la microscopie en lumière blanche ou de la microscopie en fluorescence. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 545-549. I. E.

2.919

GERNEZ-RIEUX (Ch.) et TACQUET (A.).—1950. Réaction d'hémagglutination pratiquées comparativement avec l'antigène type middlebrook et dubos et avec la tuberculine précipitée. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 550-554. I. E.

2.920

VALLEE (André).—1950. Action de la streptomycine dans la pseudo-tuberculose expérimentale du cobaye. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 555-558. I. E.

2.921

FLOCH (H.) et DESTOMBES (P.).—1950. Supériorité pratique de la diàmino-diphenyl-sulfone (1.358 F) sur les sulfones disubstituées dans le traitement de la lèpre. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 559-571. I. E.

2.922

NICOLLE (P.), JUDE (A.) et LE MINOR (L.).—1950. Relation entre l'intensité de l'irisation présentée par certaines colonies de salmonella et leur constitution antigénique. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 572-582. I. E.

2.923

NEEL (R.), GRABAR (J.) et LE MINOR (L.).—1950. Salmonelles et salmonelloses a Madagascar. De décembre 1946 a mai 1949. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 583-595. I. E.

2.924

VAN DEINSER (F.), SEYS (R.) et MACHOLDA (F.).—1950. La taille des germes composant le vaccin BCG d'après le milieu d'entretien; son importance pour le dosage du vaccin. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 596-601. I. E.

2.925

SOLOMIDES (J.).—1950. Antibiotiques actifs, in vitro, a des dilutions quasi homéopathiques (acides gras de l'huile de foie de morue, fermes hyperactives du P. A. S. et de la streptomycine). **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 602-608. I. E.

2.926

DERVICHIAN (D. G.).—1950. Des conditions d'action des substances dites «superficiellement actives» sur les microorganismes. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 609-623. I. E.

2.927

SCHAEFFER (Pierre).—1950. Croissance et respiration d'une souche streptomycino-exigeante de bacillus cereus privée de l'antibiotique-facteur de croissance. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 624-637. I. E.

2.928

PILLET (J.), ISBIR (S.) et MERCIER (P.).—1950. Etude biologique des straphylocoques d'origene animale. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 638-643. I. E.

2.929

COHEN-BAZIRE (Germaine) et N. COHEN (Georges).—1950. Etudes sur le mécanisme de la fermentation acétono-butylique. III.—Formation de butyrate a partir de β-hydroxybutyrate et d'acétylacétate. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 644-655. I. E.

2.930

CORDIER (Georgette), CLAVEIRAS (Jean) et OUNAIS (Aziz). —1950. La réaction de hirst appliquée a la recherche des anticorps dans la maladie de Newcastle. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 656-662. I. E.

2.931

BARKI (Georges).—1950. Adoptation de la méthode des tubes roulants a la technique de culture de tissus sur membranes plastiques. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 666-670. I. E.

2.932

KAUFFMANN (J.).—1950. Recherches sur la physiologie des azotobacter en association avec certains germes oligonitrophiles du sol. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 670-674. I. E.

2.933

FASQUELLE (R.) et BARBIER (P.).—1950. Essai d'abaissement in vitro de la résistance de certains staphylocoques aux antibiotiques. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 674-677. I. E.

2.934

MARAL (R.) et BLANDIN (A.).—1950. Action de la streptomycine et du para-amino-salicylate de soude (P. A. S.) dans la tuberculose expérimentale du cobaye. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 677-681. I. E.

2.935

MARAL (R.) et BLANDIN (A.).—1950. Etude in vitro de l'action du para-amino-salicylate de sodium (P. A. S.). 1.º Sur la sensibilité des souches de B. K. a la streptomycine. 2.º Sur le pouvoir bactériostatique de la streptomycine. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 681-684. I. E.

2.936

MANIGAULT (P.) et TCHAN (Y. T.).—1950. Utilisation pratique d'un posemètre en photomicrographie. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 684-686. I. E.

2.937

MOUREAU (M.).—1950. Etude du potentiel d'oxydo-réduction de la gélose profonde. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 686-691. I. E.

2.938

BUTTIAUX (R.) et KESTELOOT (A.).—1950. Mutation in vivo chez un para colobactrum. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 691-694. I. E.

2.939

SEDALLIAN (P.), CARRAZ (M.) et MARAL (R.).—1950. Sur un flavobacterium fecale isolé d'une hémoculture. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 694-695. I. E.

2.940

BRYGOO (E.-R.).—1950. Absence de pouvoir pathogène, pour le singe, des anaérobies du genre actinobacterium. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 696-698. I. E.

2.941

BERTOYE (André).—1950. Isolément d'heophilus pertusssis sur milieu additionné de suc allantoidien d'oeuf de poule incubé. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 698-699. I. E.

2.942

BERTOYE (André) et BRETTE (René).—1950. Etude d'une souche de virus d'hépatite épidémique. Lésions histologiques du foie d'embryon de poulet. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 700-701. I. E.

2.943

CARRAZ (M.) et BERTOYE (A.).—1950. Utilisation d'un milieu de champan modifié pour la détermination de la contamination de l'air par les staphylocoques. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 702-704. I. E.

2.944

LEMOIGNE (M.), PEAUD LENOEL (C.) et CROSON (M.).—1950. Assimilation des acides acétylacétiques et β-hydroxybutyriqué par B. Megatherium. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 705-710. I. E.

2.945

LWOFF (André) et GUTMANN (Antoinette).—1950. Recherches sur un bacillus megatherium lysogène. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 711-739. I. E.

2.946

GUILLAUMIE (Maylis), KREGUER (A.) et FABRE (M.).—1950. Action de la chaleur sur la toxine et la protoxine epsilonn de Cl. perfringens D. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 740-752. I. E.

2.947

LATTERRADE (Colette) et MACHEBŒUF (Michel).—1950. Recherches biochimiques sur le mode d'action de la polymyxine. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 753-758. I. E.

2.948

BARSKI (Georges) et MAURIN (Jacques).—1950. Action in vitro de la pénicilline, de la streptomycine, de l'auréomycine et de la chloromycétine sur les virus du groupe lymphogranulomatose-psittacose. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 759-764. I. E.

2.949

WALH (R.) et LAPEYRE-MENSIGNAC (P.).—1950. L'identification des staphylocoques par les bactériophages. II.—Essai de classification des staphylocoques par la méthode des phages. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 765-777. I. E.

2.950

DUCHON (L.).—1950. Précisions sur la flore strepto-enterococcique en particulier. Au cours de l'infection grippale saisonnière. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 778-783. I. E.

2.951

GIRARD (G.).—1950. Isolément d'une souche humaine de pasteurella tularensis par ensemencement direct de la sérosité de lésions cutanées. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 786-788. I. E.

2.952

HAUDUROY (Paul) et ROSSET (Willy).—1950. Etude de la tolérance vis-a-vis de la streptomicyne d'éléments isolés prélevés dans une population bactérienne. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 788-790. I. E.

2.953

HAUDUROY (Paul) et ROSSET (Willy).—1950. Etude du mécanisme d'acquisition de la tolérance vis-a-vis de la streptomycine d'éléments isolés. Prélevés dans une population bactérienne. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 791-793. I. E.

2.954

BRISOU (J.) et BRANGIER (J.).—1950. Le test de séro-protection dans les infections tipho-paratyphoidiques. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 793-795. I. E.

2.955

BRYGOO (E. R.).—1950. Recherches sur l'hémolysine de clostridium botulinum. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 795-798. I. E.

2.956

RENOUX (Gérard).—1950. Anticorps bloquants dans le sérum de sujets brucelliques. I.—Leur mise en évidence. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 798-800. I. E.

2.957

TISON (F.).—1950. Etude biologique du liquide de condensation produit au cours de la coagulation des milieux solides a l'œuf type löwenstein son influence sur la végétation du bacille de Koch. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 800-803. I. E.

2.958

SANDOR (Th.).—1950. Précisions sur une méthode de numération des cellules de levures. **Annales de l'Institut Pasteur.** 78: 803-809. I. E.

2.959

PREVOT (A. R.) et BRYGOO (E. R.).—1950. Recherches sur la toxine, l'anatoxine et l'antitoxine botuliques D. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 1-13. I. E.

2.960

LWOFF (André) et IONESCO (Hélène).—1950. L'ion potassium et la croissance de la bactérie Moraxella lwoffi. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 14-19. I. E.

2.961

GUILLAUMIE (Maylis), PESCE DE FAGONDE (A.) et KREGUER (A.).—1950. Hémolysine oxydable de Cl. bifermentans. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 20-32. I. E.

2.962

GIRARD (G.).—1950. La toxine de pasteurella pseudotuberculosis. Ses analogies avec la toxine de past. pestis. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 33-43. I. E.

2.963

BARSKI (G.) et EYQUEM (A.).—1950. Effet du sérum anti-Rh sur les tissus embryonnaires humains nerveux et splénique en culture. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 44-50. I. E.

2.964

CHABBERT (Y.).—1950. Analyse bactériologique des complexes de colicines produits par 14 souches d'escherichia coli antibiotiques. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 51-59. I. E.

2.965

BLASS (Judith) et MANIGAULT (Pierre).—1950. Etude biochimique des tumeurs de crown-gall chez pelargonium zonale. I.—Etudes des glucides. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 60-71. I. E.

2.966

MAGIS (Colette).—1950. Recherches sur la gélification des protéines. Etudes sur la caséine. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 72-76. I. E.

2.967

Mme. GRUNBERG-MANACO.—1950. Etude de Métabolisme d'un mutant d'escherichia coli résistans a l'azoture de sodium. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 77-90. I. E.

2.968

PREVOT (A. R.), SAISSAC (R.) et CALLAME (B.).—1950. Recherches sur l'origine de l'hydrogène nécessaire a la réduction des sulfites par les anaérobies. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 93-94. I. E.

2.969

CANETTI (G.) et SAENZ (A.).—1950. Action de la streptomycine sur l'allergie produite par les bacilles tuberculeux vivants et morts. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 95-99. I. E.

2.970

TISON (F.).—1950. Dissociation des pouvoirs «bactériostatique» et «bactéricide» de la streptomycine in vitro sur le bacille de Koch. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 100-103. I. E.

2.971

FAUCONNIER (J.).—1950. La décomposition de l'urée en milieu synthétique de ferguson par past. pseudotuberculosis. Réaction nouvelle de différenciation des agents étiologiques de la peste et de la pseudotuberculose. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 104-105. I. E.

2.972

Mlle. HAMELIN (A. J.).—1950. La réaction a l'isobornéol pour le sérodiagnostic de la syphilis. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 105-107. I. E.

2.973

LIEOU (Y. Ch.) et KOUO (C. C.).—1950. Premier virus rabique «renforcé» isolé a Changai. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 108-109. I. E.

2.974

LIEOU (Y. Ch.) et KOUO (C. C.).—1950. Inoculation intracérébrale a travers l'orbite iou la fosse nasale chez la souris blanche. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 109-112. I. E.

2.975

LEPINE (P.) et ATANASIU (P.).—1950. Existence a Madagascar de l'encéphalomyélite enzootique des porcs. Immunité croisée avec le virus de la maladie de teschen transmission au sanglier. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 113-120. I. E.

2.976

PASQUIER (Fernand) et MACHEBOUEUF (Michel).—1950. Etude de l'enlévement par divers agents chimiques du cuivre combiné aux protéines. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 121-129. I. E.

2.977

SANDOR (G.) et WELL-FAGE (J. Ch.).—1950. Un nouveau test de physiopathologie: la fiche réticulo-endothéliale. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 130-144. I. E.

2.978

VERGE (J.), GORET (P.), JOURBERT (L.) et CAUCHY (L.). —1950. Recherches sur la sensibilité in vitro du bacille du rouget aux antibiotiques. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 145-149. I. E.

2.979

VERGE (J.), GORET (P.), JOUBERT (L.) et CAUCHY (L.).—1950 Recherches sur la sensibilité in vivo du bacille du rouget aux antibiotiques. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 150-157. I. E.

2.980

BRISOU (J.).—1950. Les coliformes et groupes voisins. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 158-177. I. E.

2.981

SCHWARTZ (D.) et CUZIN (J.).—1950. Influence du facteur lumière sur le temps d'incubation de la Mosaique du tabac. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 178-185. I. E.

2.982

GUELIN (A.).—1950. Sur le choix des souches etalons pour la détection du bacille typhique dans les eaux par la recherche des bactériophages spécifiques. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 186-192. I. E.

2.983

LEPINE (P.), ATANASIU (P.) et Mlle. GAREAU (G.).—1950. Trois cas d'infection de laboratoire par le virus de la maladie de newcastle. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 193-196. I. E.

2.984

GASTAMBIDE-ODIER (Mireille).—1950. Remarques sur l'agglutination des globules rouges de mouton par le virus de la poliomyélite, souche MM. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 197-200. I. E.

2.985

PELLISSIER (A.), CECCALDI (J.) et ARNOULT (H.).—1950. Isolément d'un virus de cobaye brazzaville. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 200-202. I. E.

2.986

PREVOT (A. R.), URBAIN (Ach.), NOUVEL (J.) et PIETTE (Genevieve).—1950. Septicémie due a clostridium oedematiens type a chez les tortues rayées de Madagascar (testudo radiata Shaw). **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 203-204. I. E.

2.987

SOMPOLINSKY (D.).—1950. Etude d'une souche de plectridium carnis (Klein) Prévot isolée d'une enzootie danoise du vison. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 204-205. I. E.

2.988

KREGUER (A.).—1950. Toxicité périodique des solutions de toxines précipitées de bact. aerogenes. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 206-207. I. E.

2.989

DESBORDES (Jean) et FOURNIER (Etienne).—1950. Contribution a l'étude de la physiologie des bacilles acido-alcoolo-résistants. I.—Les échanges gazeux. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 208-209. I. E.

2.990

DESBORDES (Jean) et FOURNIER (Etienne).—1950. Contribution a l'étude de la physiologie des bacilles acido-alcoolo-résistants. II.—L'équipement enzymatique, la virulence et les indicateurs colorés de rH. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 210-212. I. E.

2.991

DESBORDES (Jean) et FOURNIER (Etienne).—1950. Contribution a l'étude de la physiologie des bacilles acido-alcoolo-résistants. III.—L'action du P. A. S. sur les enzymes du bacille de Koch. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 212-214. I. E.

2.992

MERCIER (Pierre) et PILLET (Jean).—1950. Contribution a l'étude étiologique et thérapeutique de l'acné juvénile. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 215-217. I. E.

2.993

CROS (R.) et DEMARCHI (J.).—1950. Note sur l'action in vitro de la chloromycetine sur le bacille de Whitmore. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 217-221. I. E.

2.994

AITOFF (Marguerite).—1950. Action de l'auréomycine in vitro. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 222-224. I. E.

2.995

TISON (F.).—1950. Etude de l'action de la penicilline in vitro sur les crachats destinés a l'inoculation au cobaye pour la recherche du bacille de Koch. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 225-228. I. E.

2.996

KAUFFMANN (J.) et Mlle. CHALVIGNAC (M. A.).—1950. Recherches sur les méthodes de mesure du pouvoir ammonificateur d'une terre. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 228-232. I. E.

2.997

RENOUX (Gerard).—1950. Anticorps bloquants dans le sérum de sujets brucelliques. II.—Leur rôle dans le phénoméne d'agglutination paradoxale. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 232-234. I. E.

2.998

ROULIN (G.).—1950. Nouvelle technique pour la recherche du bacille de Koch dans le lait par culture (application de la méthode d'ogawa). **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 235-240. I. E.

2.999

DOPTER (Charles) (1873-1950). **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 241-245. I. E.

3.000

NICOLLE (P.), JUDE (A.) et BUTTIAUX (R.).—1950. Stabilité des types bactériophagiques de salmonella paratyphi B et valeur épidémiologique de la lysotypie par la méthode de Félix et Callow. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 246-254. I. E.

3.001

WAHL (R.) et TERRADE (A.).—1950. Evolution et conditions de sterilisation des cultures bactériennes en présence de bactériophages. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 255-270. I. E.

3.002

DELAUNAY (Albert), GUILLAUMIE (Maylis), BOUJNAH (Ali) et BASSET (GU).—1950. Etudes sur le collagéne. V.—Collagénases bactériennes et pouvoir anti-collagénasique des sérums humains normaux. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 271-281. I. E.

3.003

EDLINGER (Ewald).—1950. Antibiotiques et lyse bactériophagique. V.—Sur la fixation et la multiplication du phage staphylococcique twort en présence de la streptomycine. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 282-287. I. E.

3.004

COLETSOS (P. J.), BOISVERT (H.) et Mlle. ORIOT (E.).—1950. Méthode de titrage de la sensibilité du mycobacterium tuberculosis aux antibiotiques. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 288-298. I. E.

3.005

TCHAN (Y. T.).—1950. Recherches physiologiques sur endosporus azotophagus (Tchan et Pochon 1950). Fixateur d'azote. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 299-305. I. E.

3.006

DROUHET (E.) et MARIAT (F.).—1950. La pyrimidine, facteur de croissance pour les sporotrichum. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 306-313. I. E.

3.007

MARIAT (F.) et DROUHET (E.).—1950. Action de l'anéurine et de ses constituants sur quelques mucoracées pathogènes. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 314-320. I. E.

3.008

LEPINE (Pierre) et STRUNGE (Tage).—1950. Sur la place des virus et sa représentation dans l'échelle des êtres organisés. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 322-325. I. E.

3.009

PREVOT (A. R.) TARDIEUX (P.) et RAYNAUD (M.).—1950. Structure alvéolaire des s p h e r o p h o r a c e a e, mise en évidence sur lame par les solvants des lipides. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 325-328. I. E.

3.010

PREVOT (A. R.) et SAISSAC (R.).—1950. Etude d'une nouvelle espèce anaérobie tellurique amylolytique c l o s t r i d i u m a m y l o l y t i c u m n. sp. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 328-331. I. E.

3.011

BRISOU (J.).—1950. Culture des bactéries anaérobies a l'aire libre en milieu vf. s. papaïnique emploi du milieu vf. S. papaïnique pour l'isolément rapide des anaérobies. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 331-332. I. E.

3.012

WAHL (R.) et TERRADE (A.).—1950. Libération de l'antigène glucido-lipidique de s a l m o n e l l a e n t e r i t i d i s var. danysz par la lyse bactériophagique. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 332-334. I. E.

3.013

GALLUT (J.).—1950. Relations antigéniques entre vibrion cholérique et brucelles. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 335-338. I. E.

3.014

DERVIGHIAN (D. G.).—1950. Etude quantitative de l'hémolyse par les acides gras. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 338-342. I. E.

3.015

PICHAT (P.) et REVEILLEAU (A.).—1950. Action bactéricide pour le bacille de Koch de la vitamine C A doses élevées. Comparaison avec son action sur un certain nombre d'autres microbes. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 342-344. I. E.

3.016

PICHAT (P.) et REVEILLEAU (A.).—1950. Modifications apportées chez l'homme au pouvoir bactéricide du sérum sanguin et des urines par l'utilisation a hautes doses de vitamine C: Pouvoir bactéricide pour le bacille de Koch d'une part, pour un certain nombre d'autres microbes d'autre part. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 345-347. I. E.

3.017

SOHIER (R.), TRIMBERGER (I.) et JUILLARD.—1950. Réaction d'hémagglutination type middlebrook-dubos réalisée avec les hématies humaines O et la nouvelle tuberculine I. P. 48. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 347-350. I. E.

3.018

SOHIER (R.), GOUTAYER (J.) et GOUTAYER (H.).—1950. Epreuves cutanées aux suspensions de bacilles BCG tués. Résultats obtenus. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 350-353. I. E.

3.019

WINOGRADSKY (Hélène).—1950. Sur l'extraction des humates et l'emploi de ces extraits dans les milieux destines a la culture des microbes du sol. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 354-356. I E.

3.020

BERTRAND (Gabriel).—1950. Sur un cas de télétoxine récemment mis a jour. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 357-358. I. E.

3.021

GIRARD (G.).—1950. Agglutinations croisées tularémie-brucelloses. Mise au point de la question. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 359-366. I. E.

3.022

LEVADITI (C.), VAISMAN (A.) et CHAIGNEAU (H.).—1950. Association de l'antigène méthylique et de la streptomycine dans le traitement de la tuberculose expérimentale de la souris. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 367-369. I. E.

3.023

KOLOCHINE-ERBER (B.) et COLLOMBIER (M.).—1950. Agglutination des leptospires, en particulier de L. pomona, par les sérums de porcs. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 370-375. I. E.

3.024

POCHON (J.), TCHAN (Y. T.), WANG (T. L.) et AUGIER (J.).—1950. A propos de l'emploi de la cellulose précipitée pour l'étude des bactéries celluloly-tiques. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 376-380. I. E.

3.025

LAPORTE (R.), HARDRE DE LOOZE (L.) et ROULIER (P.).—1950. Immunsérums antihémolytiques. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 381-389. I. E.

3.026

MONOD (Jacques).—1950. La technique de culture continue théorie et appli-cations. **Anales de l'Institut Pasteur.** 79: 390-410. I. E.

3.027

WANG (T. L.) et TCHAN (Y. T.).—1950. Etude cytologique d'endospo-rus azotophagus. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 411-415. I. E.

3.028

LEBRUN-PAGES (Jacqueline) et ROBINEAUX (Roger).—1950. Nouvelles recher-ches sur le tactisme leucocytaire. Tactisme et oxydations cellulaires. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 416-421. I. E.

3.029

BONNEL (P. H.).—1950. Le controle bactériologique des produits biologiques au moyen d'un milieu permettant la culture a l'air libre des germes aérobies et anaérobies. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 422-428. I. E.

3.030

WAHL (R.), TERRADE (A.) et MONCEAUX (G.).—1950. Preparation de lysats bactériophagiques de titre élevé. Purification et concentration des phages par deux adsorptions successives sur phosphate de calcium. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 429-435. I. E.

3.031

EDLINGER (E.) et FAGUET (M.).—1950. Antibiotiques et lyse bactériophagique. VII.—L'action antiphage de la chloromycétine. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 436-442. I. E.

3.032

MAGIS (Colette).—1950. Etude sur la gélification des protéines. II.—Action des alcools sur la gélification de la caséine. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 443-446. I. E.

3.033

GUELIN (A.).—1950. Sur la présence du bactériphage perfringens dans les eaux et son rôle dans l'épuration des eaux stagnantes. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 447-453. I. E.

3.034

TISON (F.).—1950. Transmission de la tuberculose par les mouches. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 454. I. E.

3.035

Mme. GASTAMBIDE-ODIER (M.).—1950. Essais sur le virus poliomyélitique, souche lansing, de divers composés organiques et quelques germes anaérobies. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 455-458. I. E.

3.036

WINOGRADSKY (Hélène) et APPERT (J.).—1950. Sur quelques formes d'actinomycétales aérobies observées dans les sédiments oligocènes du bassin de manosque (Basses-Alpes). **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 459-467. I. E.

3.037

AUBERT (J. P.) et Mlle. MILLET (J.).—1950. Existence d'une capsule glucidique chez bacillus megatherium. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 468-469. I. E.

3.038

BRISOU (J.) et BRANGIER (J.).—1950. Fixité de virulence des salmonella. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 469-470. I. E.

3.039

GAUTHIER (J. L.).—1950. Action du chloramphénicol in vitro et in vivo sur quelques pasteurelles animales. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 470-472. I. E.

3.040

FAGUET (Michel) et EDLINGER (Ewald).—1950. Antibiotiques et lyse bactériophagique. VI.—Action de la chloromycétine sur la culture d'un staphylocoque et sur la lyse bactériophagique de cette culture. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 472-478. I. E.

3.041

RENAUX (Ernest).—1950. Discours (Volume Jubilaire de Jules Bordet). **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 479-491. I. E.

3.042
SPAELANT (M.).—1950. Discours. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 492-494. I. E.

3.043
FLEMING (Alexander).—1950. Hommage a Jules Bordet au nom des savants étrangers. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 495-498. I. E.

3.044
PASTEUR VELLERY-RADOT.—1950. Discours. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 499-506. I. E.

3.045
BORDET (Paul).—1950. L'Institut Pasteur de Bruxelles. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 507-520. I. E.

3.046
BEUMER (J.) et BEUMER-JOCHMANS (M. P.).—1950. Sur quelques applications des ultrasons en microbiologie. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 521-531. I. E.

3.047
BORDET (Paul) et CHOME (Nadine).—1950. Propriétés du sérum soumis a l'action de hautes pressions. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 532-546. IL. E.

3.048
BRUYNOGHE (R.).—1950. Le facteur recessif C. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 547-550. I. E.

3.049
CARLINFANTI (E.).—1950. Problèmes quantitatifs de l'immunité. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 551-566. I. E.

3.050
DUBOIS (A.) et FESTER (Alice).—1950. A propos de la culture du bacille de Stephansky. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 567-570. I. E.

3.051
DUJARRIC DE LA RIVIERE (R.).—1950. Adsorption par les globules rouges. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 570-578. I. E.

3.052
DURAND (Paul).—1950. Dix ans de lutte contre le typhus en Tunisie. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 579-590. I. E.

3.053

FAAHRAEUS (J.), HEINERTZ (N. O.), JEPPSSON (H.) et KLING (C.).—1950. Nouvelles observations au sujet du rôle que jouent les eaux d'égout, dans la dispersion du virus poliomyélitique. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 591-603. I. E.

3.054

FLEMING (Alexander).—1950. Motilité et cils de proteus vulgaris. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 604-611. I. E.

3.055

FREDERICO (P.) et GRATIA (A.).—1950. Actions stimulantes spécifiques de certains bactériophages sur les activités microbiennes. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 612-627. I. E.

3.056

GENGOU (O.).—1950. Le citrate sodique et les phénomènes d'absorption. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 628-639. I. E.

3.057

GRABAR (Pierre).—1950. Origine et rôle des anticorps et des globulines du sérum. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 640-653. I. E.

3.058

GRAFFAR (Marcel) et MERTENS (Simone).—1950. Le rôle des blattes dans la transmission des salmonelloses. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 654-660. I. E.

3.059

GUILLAUMIE (Maylis).—1950. Hémolysines bactériennes et anti-hémolysines. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 661-671. I. E.

3.060

LEMETAYER (E.), NICOL (L.), GIRARD (O.), CORVAZIER (R.) et CHEYROUX (M.).—1950. Recherches expérimentales sur les interactions du sérum de l'anatoxine, de la toxine spécifique et des tissus dans la traitement préventif et curatif de l'intoxication tétanique. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 672-710. I. E.

3.061

LEVADITI (C.).—1950. Au sujet de l'étiologie et du mecanisme pathogénique de l'encéphalite post-vaccinale. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 711-720. I. E.

3.062

LOGHEM (J. J. van).—1950. Les conceptions «phénotype» et «clone» en bactériologie. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 721-725. I. E.

3.063

LONG (Perrin H.), BLISS (Eleanor A.), SCHOENBACH (Emanuel B.), CHANDLER (Caroline A.) et BRYER (Morton S.).—1950. Bases expérimentales et utilisation clinique des antibiotiques. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 726-736. I. E.

3.064

MILLET (M.) et HUBINONT (P. O.).—1950. Sur un caractère différentiel des agglutinines naturelles et des agglutinines d'immunisation. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 737-748. I. E.

3.065

NELIS (P.).—1950. Premier cas de tularémie humaine en Belgique. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 749-756. I. E.

3.066

POCHON (J.), MANIL (P.), TCHAN (Y. T.), BONNIER (Ch.) et CHALVIGNAC (M. A.).—1950. Etude sérologique des r h i z o b i u m. Application au problème de la compétition» entre souches. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 757-762. I. E.

3.067

PREVOT (A. R.), BEAL (G. J.) et TARDIEUX (P.).—1950. Rôle des anaérobies appartenant aux genres a c t i n o b a c t e r i u m, c o r y n e b a c t e r i u m et r a m i b a c t e r i u m dans l'étiologie des suppurations des régions jugales et cervico-faciales. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 763-766. I. E.

3.068

QUERSIN (L.).—1950. Images nucléaires et coloration de gram. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 767-771. I. E.

3.069

RIEL (Van).—1950. Le comportement de r o u s s e t t u s leachi vis-a-vis du p l a s m o d i u m berghei. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 772-776. I. E.

3.070

RODHAIN (J.).—1950. Sur la pluralité des espèces de b a b e s i a des rongeurs. A propos de la spécificité de b a b e s i a r o d h a i n i van den berghe & Al. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 777-785. I. E.

3.071

SERGENT (Edmond).—1950. Definition de l'immunité et de la prémunition. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 786-797. I. E.

3.072

VANBREUSEGHEM (R.).—1950. Un problème de mycologie médicale: le pityriasis versicolor. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 798-801. I. E.

3.073

WELSCH (Maurice) et SALMON (Jacques).—1950. Quelques aspects de la staphylolyse. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 802-813. I. E.

3.074

LWOFF (André), SIMINOVITCH (Louis) et KJELDGAARD (Niels). —1950. Induction de la production de bactériophages chez une bactérie Lysogène. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 815-859. I. E.

3.075

BEUMER (J.) et BEUMER-JOCHMANS (M. P.).—1950. Etude du comportement aux ultrasons des bactériophages fixés sur les bactéries sensibles. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 860-877. I. E.

3.076

WAHL (R.) et TERRADE (A.).—1950. Multiplication de bactériophages et des bactéries chez les souris infectées par salmonella enteritidis, var. danysz. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 878-885. I. E.

3.077

LEVADITI (C.), VAISMAN (A.), CHAIGNEAU (H.) et HENRY-EVENO (J.).—1950. Effes antituberculeux du p-amino-salicylate de streptomycine. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 886-890. I. E.

3.078

DROUHET (E.), SECRETAIN (G.) et AUBERT (J. P.).—1950. Polyoside capsulaire d'un champignon pathogène torulopsis neoformans. Relation avec la virulence. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 891-900. I. E.

3.079

FREDERICK WILLIAM TWORT.—1950. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 901-903. I. E.

3.080

PREVOT (A. R.), BESSE (P.) et FAGONDE (A. P.).—1950. Etude d'une enzootie saisonniére a mortalité élevée des soffies de l'hérault (Chondrostoma toxostoma). **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 903-905. I. E.

3.081

MAZUREK (C.).—1950. Etude de l'action in vitro de la chloromycetine sur les bactéries anaérobies. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 905-908. I. E.

3.082

FAGONDE (A. P.).—1950. Etude de la sensibilité in vitro de quelques anaérobies a l'auréomycine. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 908-910. I. E.

3.083

Mme. RUBINSTEIN (S.), PIECHAUD (D.) et KIRSCHE (P.).—1950. Shigella saigonensis. A propos de treize souches récemment isolées. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 910-912. I. E.

3.084

AMOUREUX (G.) et YEU (F.).—1950. Obtention pratique des anatoxines purifiées. **Annales de l'Institut Pasteur.** 79: 913-918. I. E.

Fotocopias en microfilm.

Microfilm negativo: cada fotograma (24 × 36 mm.), 1 peseta.

Microfilm positivo (indicado cuando hay fotograbados): cada fotograma 2 pesetas.

Carpeta «Filmoteca» para diez filmofichas: 2 pesetas.

Mínimo pagable en todo encargo: el valor de una filmoficha, 5 pts. en negativo y 10 pts. en positivo.

A partir de 1.000 fotogramas, precios especiales por convenir.

Opciones que se presentan: en negativo o en positivo; en rollo continuo o en filmofichas; con carpeta «Filmoteca» o filmofichas sueltas; metiendo en cada fotograma dos páginas o sólo una.

Salvo aviso en contrario se servirán los encargos en microfilm negativo, en filmofichas y en carpetas, y el meter una o dos páginas por fotograma se supondrá se deja al discernimiento del Servicio, según sea el original.

La modalidad «filmoficha», por la gran facilidad de ordenación, archivación, localización rápida de las cintas y manejo de lectura, supera con mucho a la modalidad en rollo. Se llama «filmoficha» una tira de película de cinco fotogramas y medio (en otros sistemas seis), en que caben diez páginas de libro ordinario (libro abierto, o sea, dos páginas cada foto). El medio fotograma que se añade (uno entero en otros sistemas) se destina a «referencia», es decir,

autor, título y signatura en la filmoteca y en el centro de origen. Las filmofichas, para ofrecer tales ventajas, van alojadas en unas carpetas «Filmoteca» especialmente dispuestas para contener diez de ellas (cien páginas o cincuenta folios) en lóculos perfectamente adaptados con sus referencias numéricas y espacio preciso para títulos, páginas y toda clase de indicaciones útiles.

Fotocopias en papel.

Formato:	9 × 12 cm.: en mate, 3 pts.;	con brillo, 3,75 pts.
»	13 × 18 cm.: en mate, 4 pts.;	con brillo, 5,25 pts.
»	18 × 24 cm.: en mate, 6 pts.;	con brillo, 8,25 pts.
»	21 × 30 cm.: en mate, 6,25 pts.	
»	30 × 42 cm.: en mate, 9,25 pts.	

N. B. Estos precios están sujetos a cierta variación, según vengan facturadas las partidas de papel.

OTRAS REVISTAS DEL PATRONATO «ALONSO DE HERRERA»

ANALES DE EDAFOLOGIA Y FISIOLOGIA VEGETAL.—Publicados por el Instituto de Edafología y Fisiología Vegetal.

Continuadores de los «Anales del Instituto Español de Edafología, Ecología y Fisiología Vegetal». Abiertos a una amplia colaboración, recogen en sus páginas trabajos sobre suelos y fisiología vegetal, tanto del Instituto de origen como de otros Centros investigadores españoles y extranjeros y, asimismo, estudios de tipo informativo y bibliográfico.

Mensual. Ejemplar, 20 pesetas. Suscripción, 160 pesetas.

ANALES DE LA ESTACION EXPERIMENTAL DE «AULA DEI».—Revista dedicada a la publicación de trabajos originales sobre investigación agrícola y problemas biológicos relacionados con la misma. Publicada por la Estación Experimental de «Aula Dei», Zaragoza.

Cada volumen, excepto Vol. 1, contiene unas 300 páginas, distribuídas en cuatro números, que se publican a intervalos irregulares.

ANALES DEL JARDIN BOTANICO DE MADRID.—Publicación del Instituto «Antonio J. de Cavanilles».

Publica trabajos y notas científicas que abarcan todos los campos de la Botánica.

Precio del tomo anual, 100 pesetas.

COLLECTANEA BOTANICA.—Publicación del Instituto Botánico de Barcelona.

Dedicado a la Botánica en general, viene a ser un órgano exterior de la actividad del Instituto Botánico de Barcelona, elemento de enlace con los demás Centros de investigación.

Publica trabajos sobre las distintas disciplinas de la Botánica: Sistemática, Florística, Fitosociología, Fisiología, Micología, Briología, Algología, etc.

Dedica una parte a reseñas bibliográficas y a la información.

Semestral. Ejemplar, 30 pesetas. Suscripción, 45 pesetas.

FARMACOGNOSIA.—Publicación del Instituto «José Celestino Mutis».

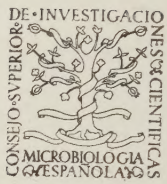
Esta revista está dedicada al estudio de los problemas de la Farmacognosia, siendo sus finalidades: una, propiamente científica, que trata de Botánica, análisis químico, experimentación fisiológica y clínica, y otra, de orden práctico, relativa al cultivo y recolección de materias primas idóneas, no sólo para la Medicina, sino para la Dietética y la industria.

Trimestral. Ejemplar, 25 pesetas. Suscripción, 80 pesetas.

GENETICA IBERICA.—Publicación del Instituto «José Celestino Mutis».

Publica trabajos sobre Citología, Citogenética y Genética de los diversos materiales que constituyen el tema específico de investigación en los distintos Centros colaboradores de la revista, en España y Portugal, y los relacionados con la mejora de las especies vegetales que interesan a la Farmacognosia.

Trimestral. Ejemplar, 20 pesetas. Suscripción, 70 pesetas.


CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS
MICROBIOLOGIA ESPAÑOLA